ONDERZOEKINGEN NAAR AANLEIDING VAN HET CHOLESTERINE-GEHALTE VAN HET BLOED BIJ VERSCHILLENDE RASSEN

NOV 3 1922

A. W. VERHOEF

ONDERZOEKINGEN NAAR AANLEIDING VAN HET CHOLESTERINE-GEHALTE VAN HET BLOED BIJ VERSCHILLENDE RASSEN

ONDERZOEKINGEN NAAR AANLEIDING VAN HET CHOLESTERINE-GEHALTE VAN HET BLOED BIJ VERSCHILLENDE RASSEN

ACADEMIES PROEFSCHRIFT TER VERKRIJGING VAN DE GRAAD VAN DOCTOR IN DE GENEESKUNDE AAN DE UNIVERSITEIT VAN AMSTERDAM, OP GEZAG VAN DE RECTOR MAGNIFICUS, JHR. DR. J. SIX, HOOGLERAAR IN DE FACULTEIT DER LETTEREN EN WIJSBEGEERTE, IN HET OPENBAAR TE VERDEDIGEN IN DE AULA VAN DE UNIVERSITEIT OP VRIJDAG 14 MEI 1920 DES NAMIDDAGS TE $4^1/_2$ UUR DOOR ANTHONIE WILHELMUS VERHOEF, GEBOREN TE OUDEWATER

UTRECHT P. DEN BOER MCMXX
SENATUS VETERANORUM TYPOGRAPHUS ET LIBRORUM EDITOR

Dat Gij, Hooggeleerde K u e n e n, mijn promotor hebt willen zijn, meen ik een groot voorrecht te mogen noemen. Uw voortdurende hulpvaardigheid, Uw heldere blik en Uw kritiese geest zijn mij een grote steun geweest, waarvoor ik U niet genoeg danken kan.

Ook U, Hooggeleerde v a n L o g h e m betuig ik mijn erkentelikheid voor de welwillendheid waarmee Gij mij in de gelegenheid gesteld hebt in het Instituut voor Tropiese Hygiëne dit onderzoek te verrichten.

Biezondere dank breng ik verder aan U, Hoogleraren en Docenten van de Utrechtse faculteiten der Wis- en Natuurkunde en der Geneeskunde, tot wier leerlingen te behoren ik steeds een grote eer en dure plicht zal beschouwen.

Allen, die met raad en daad mij bij de bewerking van dit proefschrift bijstonden, worden hier met dank herdacht.

INHOUD

Bldz.

Eerste gedeelte

Inleiding 1

Literatuuroverzicht 8

Tweede gedeelte

Methodiek 15

De digitonine-methode 16

De colorimetriese methoden 17

Vergelijking van de vier besproken methoden 21

Eigen onderzoek 28

I Cholesterine-gehalte van het bloed bij verschillende categoriën van personen 30

II Experimenteel gedeelte 37

Samenvatting 48

Literatuur 50

EERSTE GEDEELTE

INLEIDING

De beschouwingen van de vroegere tropen-artsen over klimatologiese en atmosferiese invloeden op de physiologie en de pathologie van de tropen-bewoners en over de verschillen die deze invloeden bewerkten op het gestel van Inlander en Immigrant hebben, geheel in overeenstemming met de nieuwere zuiver-wetenschappelike banen, waarin de studie der geneeskunde geleid is, langzamerhand min of meer afgedaan. In handen van vele en zeer ervaren speurders, waaraan ook onze koloniën niet arm zijn geweest, heeft wetenschappelik onderzoek licht gebracht in veel wat tot voor kort in een geheimzinnig waas was gehuld. Zo is de grote vlucht, die bakteriologie en serologie de laatste decenniën hebben genomen voor 't grote werk dat in onze koloniën gebeurt, van onnoemelike betekenis geweest.

Niet alleen de hygiëne en de pathologie hebben van het wetenschappelik onderzoek de vruchten geplukt. Ook de tropiese physiologie is ijverig bestudeerd en vooral E y k m a n moet genoemd worden als een van de eersten, die zich niet hebben neergelegd bij de opvattingen, zoals die tot op zijn tijd gehuldigd werden, maar die niet hebben gerust voor ze de onbewezen meningen aan de praktijk hadden getoetst en die in plaats van min of meer philosophiese beschouwingen gesteld hebben het zuivere en nuchtere wetenschappelik onderzoek. Behalve dat Eykman veel heeft opgehelderd van wat werd genoemd als verschil tusschen de normale levensverrichtingen van de Europeaan in Europa en de Europeaan in Indië, heeft hij ook zijn aandacht gewijd aan de vermeende verschillen in constitutie van de inlandse bewoner van de tropen en die van koelere gewesten.

Het eerst heeft hij zich bezig gehouden met de bestudering van de samenstelling van het bloed. Aan de mystieke tropiese anaemie ontnam hij [15]*) alle waarde door uit te maken, dat zowel het haemoglobine-gehalte als het aantal erythrocyten gelijk is bij Europeanen, die pas in Indië zijn aangekomen, die langer in Indië zijn en bij Inlanders en tevens dat de gevonden waarden niet noemenswaard afwijken van de waarden door Europeese onderzoekers in Europa gevonden. Onafhankelik van deze onderzoekingen is Van der Scheer [60] in hetzelfde jaar tot dezelfde conclusie gekomen. Nadere onderzoekingen van het bloed brachten Eykman [16] tot de kennis, dat zowel het soortelik gewicht als het watergehalte van het bloed van de tropenbewoner — hier dan onder te verstaan èn Europeaan èn Indonesiër — niet afwijkt van dat van de bewoners van koudere streken.

Grijns [34] heeft later, met een andere methode, de uitkomsten over het soortelik gewicht nagegaan en is tot gelijkluidende resultaten gekomen.

Eykman [17 18 20] heeft verder in het Laboratorium voor pathologiese anatomie en bakteriologie te Weltevreden gelegenheid gevonden uitgebreide onderzoekingen in te stellen over de stofwisseling in de tropen. Proefpersonen hiervoor zijn geweest Europeanen en Maleiers aan het laboratorium verbonden. Analyses van het genomen voedsel, van urine en faeces, verder nauwkeurige analyses van in- en uitgeademde lucht hebben ten duidelikste getoond, niet alleen dat de stofwisseling door de invloed van het tropiese klimaat niet veranderd wordt, maar ook dat er in deze geen verschillen bestaan tussen het Europeese en het Maleise ras. Eykman's [19] onderzoekingen verder over het verschil in huidpigment bij de Europeaan en de Maleier hebben het waarschijnlik gemaakt, dat dit verschil geen invloed uitoefent op het warmteverlies door straling en geleiding.

---

*) Deze getallen verwijzen naar de literatuur-opgave.

De onderzoekingen van Grijns [35] [36], die uitwezen dat er in enkelvoudige reactietijd en in reukscherpte een verschil bestaat tussen Europeanen en Maleiers, wil ik, omdat zij meer op psychies terrein liggen, hier verder onbesproken laten.

Toch mogen deze resultaten nog niet doen besluiten, dat er tussen het Europeese en Aziatiese ras geen physiologiese verschillen zouden bestaan, noch dat beide rassen steeds dezelfde reactie zouden vertonen op pathologiese invloeden. Van Loghem [49] heeft op het verkeerde van een dergelijke conclusie al gewezen in zijn inaugurale rede. De clinicus in de tropen toch stuit wel degelik op verschillen in reactie tegenover een of ander ziektewekkend agens. De vraag of dergelijke verschillen uitsluitend onder invloed van uitwendige levensomstandigheden der onderscheidene rassen zouden kunnen ontstaan, mag niet zonder nauwkeurig onderzoek toestemmend worden beantwoord.

Er bestaan toch enkele onderzoekingen, die aantonen dat er duidelik verschillen tussen de mensen onderling volgens serologiese methoden kunnen worden aangetoond, verschillen die ook overgebracht worden op de nakomelingschap. Von Dungern en L. Hirschfeld [12] [13] [14] hebben gevonden, dat het serum van een aantal mensen iso-agglutininen bevat tegenover de bloedlichaampjes van andere lieden. Zij kwamen tot de conclusie, dat er twee verschillende iso-agglutininen bestaan. Het dragen van een van de specifieke iso-agglutininen bleek erfelik te zijn en er ontstaan bij kruising homozygoten en heterozygoten, waarbij de wetten van Mendel op de nakomelingschap van toepassing zijn. L. en H. Hirschfeld [38] hebben in de oorlog op het Oostfront, waar zoveel verschillende rassen bijeen waren, duizende personen onderzocht op het dragen van deze iso-agglutininen. Daarbij is aan het licht gekomen, dat in het Europeese ras de dragers van de ene soort sterk in de meerderheid zijn, terwijl bij het Aziaties-Afrikaanse ras de andere soort overweegt en dat er een intermediair type bestaat — Arabieren, Russen, Turken, Joden — dat beide

soorten in nagenoeg gelijke waarden vertegenwoordigt. Een waarneming, die volgens hen mogelik zou kunnen wijzen op een dubbele oorsprong van het mensdom.

Daar nu echter in alle rassen, zij het ook in verschillende mate, de beide groepen vertegenwoordigd zijn, is deze kwestie een vraagstuk op zichzelf, dat het vraagstuk der rassen kruist. Ook in onze koloniën, waar zoveel mengvormen bestaan, zou het m. i. van belang zijn hieraan aandacht te wijden.

Een tweede onderzoek, dat op een serologies onderscheid tussen de rassen zou wijzen, is dat van Bruck [9]. Met zwak praecipiterende sera gelukte het hem, door middel van de complementbinding, met een tegen vertegenwoordigers van het blanke ras gericht antiserum, het blanke van het mongoolse en maleise ras te onderscheiden.

Zijn resultaten hebben nog geen bevestiging gevonden. Het is bovendien de vraag of dergelijke verschillen zich in physiologies of pathologies opzicht zouden uiten.

Van groot belang voor de beoordeling van eventuele rasverschillen zijn de onderzoekingen van de Langen in Batavia omtrent de scheikundige samenstelling van het bloed.

De Langen heeft als eerste in onze koloniën werk gepubliceerd over de nieuwere chemiese methoden van bloedonderzoek; hierbij heeft hij dan ook vooral zijn aandacht geschonken aan eventuele rasverschillen. Twee merkwaardigheden zijn voor den dag gekomen.

Met Schut heeft hij nagegaan het glucose-gehalte van het bloed en gevonden, dat dit in de tropen, zowel bij Europeanen als bij Inlanders hoger is dan in Europa als normaal wordt gevonden. In hun eerste mededeling [44] hierover menen zij vooral de hogere temperatuur als oorzaak te moeten aanzien — een mening waarvoor zij later [45] steun gevonden hebben in het feit, dat bij verplaatsingen uit het laagland naar de bergen het bloedsuikergehalte van mens en dier vrij spoedig daalt, terwijl bij terugbrengen naar de vlakte weer een stijging optreedt. Hier is dus geen kwestie van verschil

tussen de rassen, in tegendeel de beide rassen reageren op volkomen dezelfde wijze op uitwendige levensomstandigheden, hier op invloeden van het klimaat.

De tweede merkwaardigheid door de Langen [44] gevonden, betreft het gehalte van het bloedserum aan cholesterine. Deze onderzoekingen wezen n.l. uit, dat bij een aantal Inlanders die onderzocht werden het gehalte aan cholesterine van het bloedserum veel lager was dan algemeen gevonden was in Europa bij Europeanen. Terwijl het gemiddelde gehalte van de verschillende Europeese onderzoekers ongeveer 0.17 % *) bedraagt, berekende de Langen n.l. uit twintig bepalingen een gemiddelde van 0.088 %. Merkwaardig is, dat dit lage cholesterine-gehalte een steun geeft aan de uitspraak van Aschoff en Bacmeister [3], dat voor het ontstaan van galstenen een cholesterine-diathese aansprakelik is — immers bij de Inlandse bevolking van Indië bleek bij onderzoek van de gegevens van een groot aantal patiënten over verschillende jaren en verschillende hospitalen verdeeld, de frequentie van cholelithiasis buitengewoon laag te zijn (de Langen [42 43]).

de Langen zelf meent dit lage cholesterine-gehalte te moeten opvatten als de uitdrukking van een ras-eigenschap. Hoewel hij aan het verschil in voeding tussen beide categoriën — Indonesiërs en Europeanen — niet alle invloed zou willen ontzeggen, meent hij toch dat hiermede niet de enige oorzaak is genoemd. „Wel levert de voeding de noodige grondstof, maar „de interne humorale stofwisselingsfactoren beslissen over „haar lot, of er al dan niet gebruik van zal worden gemaakt." Het meest waarschijnlik lijkt het hem, dat de klieren met inwendige uitscheiding deze verschillen zouden beinvloeden, maar eigenlik komt hij toch niet verder dan dat hij vragenderwijs zijn mening aldus stelt:

---

*) Hier en verder overal wordt gesproken van x %, waar bedoeld wordt x gram cholesterine per 100 c.c. bloed.

„Zijn deze orgaanfuncties nu in den loop der tijden factoren „geworden, die het rasverschil helpen beheerschen, komt de „interne secretie met haar chemische processen een besliste „plaats opeischen in de beoordeeling van de rassenpathalogie? „En hebben deze chemische processen zich ingesteld op de „eischen, die in den loop der geslachten door voeding, klimaat, „leefwijze etc. aan het organisme zijn gesteld?"

Als hij zijn mening aldus formuleert, gaat hij dus uit van de vooropstelling, dat het cholesterine-gehalte van het serum bij Europeanen in de troepen niet veranderd is. Door uitwendige omstandigheden is hij niet in de gelegenheid geweest, dit tegelijk na te gaan. Wel heeft hij bij zichzelf een bepaling gedaan en deze zou dezelfde uitkomst gegeven hebben als vroeger in Holland was verkregen. Uit enkele bepalingen die de Langen later [45] bij uit Europa geimmigreerden kon verrichten, meent hij echter te mogen aannemen dat het cholesterine-gehalte van Europeanen in de tropen ook daalt. Hij geeft evenwel geen getallen, zodat het niet mogelik is hierover verder een inzicht te krijgen. Om de invloed van de voeding na te gaan, heeft hij bij een tweetal inlandse patiënten onderzocht hoe het cholesterine-gehalte zich gedroeg bij cholesterine-rijke voeding. Wel werd hierdoor een stijging waargenomen, maar er bleef nog een aanmerkelik verschil bestaan tussen de dan bereikte hoogte (± 0.12 %) en de Europeese waarden (± 0.17 %).

Over vergelijkend onderzoek bij andere Aziatiese volken is slechts weinig bekend. Yamakoshi [72] heeft in Japan onderzoekingen ingesteld over het cholesterine-gehalte van het bloed in pathologiese gevallen. Daartoe vergelijkt hij de gevonden waarden met een gemiddelde dat hij bij 10 gezonden vond. Juist dit normale getal interesseert ons: hij vond dit tussen 0.130 % en 0.160 % met een gemiddelde van 0.143 %. Ook dit getal staat dus beneden het normale Europeese, al is het niet te vergelijken met de lage waarden door de Langen gevonden.

Deze feiten beschouwende moeten we tot de slotsom komen,

dat het gevonden verschil tussen Indonesiërs en Europeanen nog niet voldoende is opgehelderd. Voor zover deze kwestie nu is nagegaan en zolang nadere onderzoekingen ontbreken is het mijns inziens niet gerechtvaardigd te besluiten dat dit verschil een uiting zou zijn van voor een ieder ras specifieke werking van de endocrine organen. Even goed zou het mogelik kunnen zijn dat men hier, als bij het bloedsuiker-gehalte, te doen heeft met een voor beide rassen gelijke reactie op bepaalde uitwendige invloeden, waarvan men dan zeker de invloed van de voeding in aanmerking zou moeten nemen. Dat na $1^1/_2$ week cholesterine-rijke voeding het gehalte nog niet tot een Europeese waarde gestegen was, kan even goed het gevolg zijn van het feit, dat het lichaam geneigd is om vast te houden aan het niveau, waarop het eenmaal is ingesteld. Een beter inzicht zal hiervan kunnen worden verkregen door onderzoek van individuen, die l a n g e r e t ij d de levensgewoonten — in casu speciaal de voeding — van het andere ras hebben gevolgd.

LITERATUUR-OVERZICHT

Tracht men in de literatuur een antwoord te vinden op de vraag in hoeverre het door de Langen gevonden verschil afhankelik zou kunnen zijn van een verschil in levenswijze der beide rassen, dan ondervindt men grote bezwaren. Het vraagstuk der cholesterine-stofwisseling is nog verre van opgelost, integendeel men stuit op tal van tegenstrijdige opgaven. Bepalen wij ons tot de waarnemingen op het gebied der physiologie, dan blijken er nog overal verschillen te bestaan.

Verschillende onderzoekers hebben op verschillende wijzen bij normale personen cholesterine in het bloed gevonden en het gehalte er van bepaald. Wel komen zij tot uiteenlopende waarden (zie later), maar het schijnt toch wel vast te staan dat voor elk individu het gehalte om een bepaald gemiddelde schommelt. Sommigen (o. a. Grigaut [33]) menen dat voor de ene diersoort het normale hoger ligt dan voor een andere diersoort.

De vraag of het lichaam in staat is cholesterine te vormen is niet eenstemmig beantwoord. Grigaut, die met zijn leermeester Chauffard en anderen hierover gewerkt heeft, welke onderzoekingen ten slotte verenigd zijn in Grigaut's Thèse de Paris [33], komt tot de slotsom, dat cholesterine in het lichaam gevormd wordt en wel in de bijnieren en in het corpus luteum. Hiertegen zijn van verschillende zijden bezwaren gerezen. Gardner [21—32], die met een schaar van medewerkers een stelselmatig sober onderzoek heeft ingesteld over de normale cholesterine-physiologie, meent te mogen besluiten, dat synthese van cholesterine in het lichaam niet plaats heeft [24 31]. Ook van Duitse zijde is opgekomen tegen Grigaut's mening. Landau en Mac Nee [40], Rothschild [56 57] en Soper [61]

hebben, bij Aschoff, systematies nagegaan de invloed van de verschillende organen op het cholesterine-gehalte van het bloed: de bijnieren, menen zij, hebben geen invloed op de cholesterine-stofwisseling, er wordt geen cholesterine door gevormd en er heeft ook geen verzeping of esterificatie in plaats — veel eer zou men moeten denken, dat de vitale betekenis van de bijnieren afhankelik is van hun gehalte aan cholesterine. Zij zien daarentegen de lever en de milt aan voor organen, die „regelend" op de cholesterine-stofwisseling zouden werken — door dit „regelend" dan m. i. aangevend, dat zij de oorsprong van de cholesterine vooralsnog in 't midden willen laten. Ook Köhler [65], — die medewerkte aan het serie-onderzoek van Wacker en Hueck [63—69] — komt tot de conclusie, dat het gehalte aan cholesterine, en wel speciaal de esters, van de bijnieren experimenteel van uit het bloed is te beinvloeden; hij drukt zich dus wel voorzichtiger uit, maar laat niettegenstaande blijken, dat ook naar zijn mening de verhoging in het bloed primair is.

Het meest bestudeerd is wel de invloed van de voeding, maar ook hierover zijn de akten nog lang niet gesloten. Grigaut [33] toonde aan, dat een cholesterine-rijk diëet verhoging van het cholesterine-gehalte tengevolge kan hebben — dat dit niet altijd gebeurt, bleek hem doordat twee van zijn vier proefdieren wel, de andere twee niet in die zin reageerden. Ook bij mensen bleek door een cholesterine-rijk diëet het gehalte te kunnen stijgen. Grigaut slaagde er echter niet in, door welk diëet dan ook, het cholesterine-gehalte lager te doen dalen dan 0.120 % — daarmee volgens zijn eigen uitspraak dus in strijd blijvend met de vondsten van Lemoine en Gerard, die waarden tot 0.048 % hadden gevonden bij een zeer arm diëet. Zonder verder onderzoek weigert Grigaut dan ook deze laatste uitkomsten als juist op te vatten. Rouzaud en Cabanis [59] gaven aan 12 proefpersonen een zelfde cholesterine-rijke voeding, onderzochten het bloed voor en ongeveer 4 à 5 uur na de maaltijd en vonden geen verschil; zeer ten onrechte m. i.

besloten zij daaruit dat er bestaat „de la cholestérinémie physiologique, indépendante de l'alimentation" — immers zij hadden niet de nodige voorzorgen genomen om vóór de proefmaaltijd een eventuele hypercholesterinaemie ten gevolge van een vorige maaltijd uit te sluiten. Verschillende andere onderzoekers — Gardner en zijn medewerkers [25] [27], Wacker en Hueck [65] [66], Anitschkow [2], Lehman [46], Luden [51] — hebben ten slotte wel aannemelik gemaakt, dat bij toevoeging van cholesterine aan het voedsel of bij percutane toediening ook het gehalte aan cholesterine en zijn esters in het bloed stijgt.

Zo zag Luden bij twee geiten, die per dag 0.30 gram cholesterine bij de voeding kregen het gehalte aanmerkelik stijgen — het ene dier had bij de aanvang van de proeven een gehalte van 0.124 % en steeg na 3 weken cholesterine-voeding tot 0.186 %, het andere dier kwam van 0.170 % op 0.260 %.

Een andere vraag is of bij eenvoudige vetvoeding — waarin dus weinig cholesterine als zodanig voorhanden is — het cholesterine-gehalte van het bloed stijgt. Widal, Weill en Laudat [70] lieten gezonde personen eerst 15 uur vasten en gaven dan een vetrijke proefmaaltijd; het cholesterine-gehalte van het bloed steeg hierdoor met ± 30 %. Grigaut [33] heeft al op het merkwaardige van deze uitkomsten gewezen: terwijl de cholesterine, die in het voedsel aanwezig was, in het geheel niet meer dan 0.5 gram bedroeg, was de toename in het bloedserum ongeveer evenveel per liter. Hiertegenover staan b.v. weer de resultaten van Bloor [6], die bij honden, die eerst 24 uur gevast hadden en daarna een zeer vetrijk maal te genieten kregen, wel de lecithine en vetzuren verhoogd vond, maar van een verhoging van het cholesterine-gehalte in het bloed was geen sprake. Uit de laatste tijd dateert nu weer een artikel van Hueck en Wacker [69], die gevonden hebben, dat er bij veranderingen door de voeding wel degelik een verregaand parallelisme is tussen cholesterine en zijn esters en de andere lipoiden. Zij schrijven daarbij aan de cholesterine een belangrijke rol toe in de intermediaire vetstofwisseling.

Een merkwaardig onderzoek heeft onze landgenote Georgine Luden (in de Mayo Clinic in Rochester, Minn.) ingesteld. Zij heeft zich vooral beziggehouden met de studie van de cholesterine-stofwisseling in verband met het vraagstuk van de maligne tumoren [50]. Daartoe heeft zij ook proeven omtrent de invloed van het voedsel ingeschakeld. Bij schraal vegetaries diëet zag zij [52] het cholesterine-gehalte in haar eigen bloed naar beneden gaan — bij een voeding die voornamelik bestond uit havermout daarentegen was het gehalte weer hoger dan bij gemengde voeding. Zij zag tevens verlaging van cholesterine gepaard gaan met vermeerdering en een verhoging met vermindering van het aantal lymphocyten. Voor ik evenwel mee zou kunnen gaan met de gevolgtrekkingen die zij maakt over de gunstige invloed van het vegetaries diëet op de frequentie van de kwaadaardige gezwellen, zouden deze proeven nog moeten worden herhaald en ter dege gecontroleerd.

In de oorlogstijd hebben Rosenthal en Patrzek [54 55] in Duitsland bij de grote-stads-bevolking het bloed-cholesterine-gehalte zeer sterk zien dalen. Zij geven getallen van 21 onderzochte personen; hiervan zijn er twee boven 0.150 %, de andere zijn echter te vergelijken met de waarden, die de Langen in Batavia gevonden heeft — hun laagste waarden b.v. zijn 0.048 % en 0.034 %. Zij menen dit te moeten toeschrijven aan ondervoeding, of dus de uitwendige omstandigheden geheel als normaal mogen worden beschouwd en men hier niet met een pathologiese invloed te doen had is m. i. nog twijfelachtig. Zij zelf besluiten uit het feit, dat de beter gesitueerden en de plattelandsbewoners deze verandering niet aanwezen, dat de vet-arme voeding de oorzaak is en menen, dat er een analogie bestaat met de waarnemingen van Stepp [62], dat bij honden die experimenteel lipoide-vrij werden gevoed, een laag cholesterine-gehalte werd gevonden — dat deze honden vrij snel te gronde gingen maakt deze vergelijking evenwel niet geheel zuiver.

Bij totale onthouding van voedsel zagen verschillende onder-

zoekers — o. a. Ellis en Gardner [29], Rothschild [58] — het cholesterine-gehalte van het bloed stijgen.

Dat men bij experimenteel onderzoek zeer voorzichtig moet zijn in zijn besluiten en dat men terdege de omstandigheden in het oog moet houden, moge blijken uit de onderzoekingen van Wacker en Hueck [67], die bij dyspnoe belangrijke stijgingen zagen en van hun medewerker Picard [68], die aantoonde, dat ook spierarbeid aanmerkelike veranderingen kan te weeg brengen, soms in positieve soms in negatieve zin.

Over de wijze, waarop cholesterine door het lichaam wordt uitgescheiden, is nog weinig zekerheid. Vast staat, dat met de faeces cholesterine of derivaten er van (coprosterine) het lichaam verlaten; dit is echter gewoonlik minder dan met het voedsel wordt ingebracht; door de darmwand zou dus cholesterine worden opgenomen (Mueller [53] heeft aangetoond, dat deze opname via de chylus-banen plaats heeft). Maar behalve door de voeding wordt ook door de gal cholesterine in de darm gebracht. Hiervan zou dus waarschijnlik ook een gedeelte weer door de darm worden geresorbeerd. Over de verhouding tussen het gehalte van de gal en de voeding en het gehalte van het bloed is ook weer veel te zeggen. Om het overzicht niet onnodig uit te breiden bepaal ik mij hier echter tot enkele korte aanwijzingen. Goodman [32] zag, dat het cholesterine-gehalte van de gal na eiwitrijke voeding verhoogd is; Bacmeister en Havers [5] zagen hetzelfde na rijkelike voeding. Rothschild [57] neemt aan dat het gehalte van de gal afhankelik is van het bloedgehalte en dat dit weer direkt onder de invloed van de voeding staat. D'Amato [1] daarentegen beweert weer dat bij lipoide-rijke voeding slechts zeer geringe verhogingen in de cholesterine-uitscheiding door de gal optreden. De meest duidelik geformuleerde mening over resorptie en uitscheiding is die van Dorée en Gardner [23]. Zij geven de volgende hypothese: daar de cholesterine als opbouwprodukt voor nieuwe cellen zeer kostbaar is, wordt de cholesterine, die door de lever — de grote afbreekplaats van rode bloedcellen — met

de gal wordt uitgescheiden, door de darmwand weer gedeeltelik geresorbeerd en door het bloed gevoerd naar de plaatsen, waar nieuwe cellen gevormd worden.

Is er dus op 't gebied van de physiologie nog maar zeer weinig overeenstemming tussen de verschillende onderzoekers, over de betekenis van de cholesterine-veranderingen in pathologiese gevallen is nog lang niet het laatste woord gezegd. Hierover wil ik verder niet uitweiden, maar 't is toch wel merkwaardig aan te stippen, dat terwijl ernstige onderzoekers — Klinkert Jr. [39] wil ik hier met name noemen, voor de buitenlanders kan ik verwijzen naar de uitgebreide literatuuropgaven bij de publicatie's van Grigaut [33], van Landau en Mac Nee [40], Rothschild [56 57 58] en Soper [61] en het serie-onderzoek van Wacker en Hueck met hun medewerkers [63—70] — bij zeer verschillende afwijkingen constante veranderingen van het cholesterine-gehalte van het bloed constateerden, Denis [11] tot de slotsom komt: „cholesterol determinations in the blood „are therefore at present of no value in the clinical diagnosis „or prognosis of disease".

Onbevooroordeeld de balans opmakend, komen wij tot een vrij schamel saldo. Wij kunnen eigenlik niet meer zeggen, dan dat vast schijnt te staan:

1. In het bloed van verschillende individuen komt cholesterine voor — vrij en gebonden als esters.
2. Voor de individuen is dit gehalte, ceteris paribus, constant.
3. Voor de diersoorten schommelt dit gehalte om een bepaald evenwicht met tamelik enge grenzen.
4. Door voeding is het gehalte te beinvloeden en wel zo, dat door cholesterine-rijke voeding het gehalte stijgt; physiologiese daling tengevolge van de voeding beneden een zekere norm is niet bewijzend aangetoond.

5. Bij inanitie stijgt het gehalte.

6. Spierarbeid beinvloedt het gehalte.

7. Onder sommige pathologiese omstandigheden (met name bij tumoren, diabetes, tijdens de zwangerschap) kan het gehalte aanmerkelik stijgen.

Met deze kennis voor ogen heb ik getracht de vondsten van de Langen verder te onderzoeken.

TWEEDE GEDEELTE
METHODIEK

Uit de literatuur over het cholesterine-vraagstuk blijkt, dat over de bruikbaarheid van de verschillende methoden ter bepaling van het cholesterine-gehalte van weefsels en lichaamsvloeistoffen weinig eenstemmigheid heerst. Verschillende onderzoekers hebben zich bezig gehouden met bestudering van de methoden (o.a. Lifschütz [48], Hess Thaysen [37]). Gewoonlik komen zij alleen tot het negatieve resultaat dat de een of andere methode niet zonder fouten of nadelen is. Het leek mij derhalve noodzakelik de methoden aan de praktijk te toetsen en de uitkomsten onderling te vergelijken; daarbij heb ik mij bepaald tot de meest gebruikelike methoden en op één uitzondering na mij niet verdiept in allerlei aanvullingen en verbeteringen.

De methoden, die ik heb nagegaan, zijn in twee groepen onder te brengen. Tot de eerste categorie behoort alleen de methode-Windaus [71], die berust op het feit, dat cholesterine in alkoholiese oplossing samengebracht met een alkoholiese oplossing van digitonine kwantitatief wordt neergeslagen als digitonine-cholesteride. De tweede groep omvat een aantal werkwijzen, waarbij gebruik gemaakt wordt van de Liebermann-Burchard'se reactie: cholesterine in chloroform en azijnzuuranhydride opgelost, vertoont met sterk zwavelzuur een groene verkleuring, waarvan de intensiteit afhankelik is van de hoeveelheid cholesterine. Van dit beginsel hebben o.a. Grigaut [33], Autenrieth en Funk [4], en Bloor [7] gebruik gemaakt; de verschillen in hun methodiek uiten zich in de wijze waarop zij de cholesterine uit het te onderzoeken milieu extraheren.

I. De digitonine-methode

Windaus heeft het eerst opmerkzaam gemaakt op het feit, dat cholesterine uit alkoholiese oplossing kwantitatief wordt neergeslagen door toevoeging van alkoholiese digitonine-oplossing, waarbij één molekule cholesterine door één molekule digitonine wordt gebonden. Deze eigenschap komt alleen toe aan de niet gebonden cholesterine, cholesterine-esters moeten om neergeslagen te kunnen worden eerst worden verzeept. Hieruit heeft hij zijn methode ontwikkeld om vrij en gebonden cholesterine afzonderlik te bepalen [71]. Dit was voor mijn onderzoek niet nodig, daarom heb ik volgens het voorschrift van Klinkert [39] gewerkt, die aanraadt eerst alles te verzepen.

> Daartoe worden 5 c.c. helder serum anderhalf uur op 't waterbad verzeept met 50 c.c. van een 8 % alkoholiese KOH-oplossing. Na afkoeling wordt deze massa driemaal telkens met 50 c.c. verse aether krachtig geschud. Deze aether wordt bij elkaar gevoegd en dan in een scheitrechter verscheidene malen met gedestilleerd water gewassen. Daarna wordt de aether in een destilleerkolf gedaan, de aether wordt verdampt en de cholesterine blijft, gewoonlik kristallijn, in de kolf achter. Dit kristallijne neerslag wordt opgelost in ongeveer 40 c.c. warme alkohol en daarna wordt er 15 c.c. van een warme 1 % alkoholiese digitonine-oplossing bijgevoegd. Na enige tijd zet zich vlokkig digitonine-cholesteride af. Klinkert laat dit mengsel 5 dagen staan om zeker te zijn van een kwantitatieve reactie — om het hinderlik afzetten tegen de glazen kolf tegen te gaan is het nodig dat de oplossing de eerste twee dagen nu en dan geschud wordt. Als de kolf lang genoeg gestaan heeft, wordt het neerslag op een droog, te voren gewogen filter verzameld, het filter gewassen met alkohol en aether en daarna bij 100° tot constant gewicht gedroogd en dan gewogen. Daar nu één molekule van het verkregen neerslag één molekule cholesterine bevat, wordt

uit de verhouding van de molekulaire gewichten het gehalte aan cholesterine gevonden. Prakties komt het hierop neer dat een vierde deel (eigenlik 0,2431) van het neerslag cholesterine is.

Als men nauwkeurig werkt zijn er op deze methode geen aanmerkingen te maken. Grove fouten zou men alleen kunnen maken als men het filter niet voldoende droogde of b.v. te lang liet staan, de digitonine-cholesteride is n.l. zeer hygroscopies: na één dag staan in een exsiccator vond ik constant het gewicht aanmerkelik toegenomen. Men heeft hierin m.i. een ideaal-methode ter bepaling van het cholesterine-gehalte die echter voor de kliniek twee bezwaren heeft: in de eerste plaats heeft men eerst ongeveer een week na de venaepunctie een uitslag, in de tweede plaats wordt er een zeer goed uitgerust laboratorium voor vereist — om van de vrij hoge kosten nog te zwijgen.

II. De colorimetriese methoden

Zowel vrije cholesterine als de cholesterine-esters geven de reeds genoemde kleurreactie. Het beste gaat men aldus te werk, dat men uitgaat van een chloroformoplossing, hierbij ongeveer de helft van de hoeveelheid aan azijnzuuranhydride toevoegt en vervolgens enkele druppels sterk zwavelzuur. Langzamerhand ontwikkelt zich dan een groene verkleuring, die na verloop van tijd verdwijnt. Behalve van de hoeveelheid cholesterine is de intensiteit van de kleur in sterke mate afhankelik van de hoeveelheid zwavelzuur. Men moet dus bij de colorimetriese bepaling nauwkeurig toezien, dat bij de onbekende en de standaardoplossing, waarmee men vergelijkt, dezelfde hoeveelheid sterk zwavelzuur wordt toegevoegd. De intensiteit van de kleur is niet afhankelik van de hoeveelheid azijnzuuranhydride.

Deze kleurreactie is zeer nauwkeurig. Maakt men een reeks cholesterine-oplossingen, die zich verhouden als 1 : 2 : 3

enz. : 10 en voert men hiermee de reactie uit, dan krijgt men na verloop van een half uur een oplopende reeks van kleurschakeringen, die onderling zeer duidelik verschillen, waartussen het gemakkelik zou zijn tussenliggende waarden te plaatsen en die nauwkeurig tot elkaar terug zijn te brengen door verdunning met de verdunningsvloeistof (een mengsel van chloroform, azijnzuuranhydride en sterk zwavelzuur in de gebruikte verhouding).

Een nadeel dat de colorimetriese bepaling aankleeft is hierin gelegen, dat soms de kleur van de beide oplossingen niet gelijk is. Vaak ziet men de onbekende oplossing — d.i. de oplossing die op een van de hierna te bespreken wijzen uit het bloedserum is verkregen — een gelere tint krijgen dan de standaardoplossing, soms ook is de standaardoplossing geler geworden. Aan een toevallig bijmengsel schijnt dit verschil niet te moeten worden toegeschreven, want men ziet soms ook een kleurverschil optreden, wanneer men uitgaat van verschillende porties van dezelfde oplossing. Het gelukte mij ook kleurverschil willekeurig teweeg te brengen. Als ik van twee ingestelde reacties de een in donker de ander in licht liet staan, dan zag ik dat na verloop van een half uur de eerste veel geler was. Door een enkele druppel gedestilleerd water toe te voegen in een der buisjes kon aan de reactie in dit buisje een blauwere tint worden gegeven. Van de verschillende methoden, die worden aangewezen om deze moeilikheid te ontgaan, heb ik er één verscheidene malen toegepast — ik kom hier nog nader op terug — echter met zeer weinig gevolg. Een oplossing heb ik voor deze vraag niet kunnen vinden, wel heb ik echter op den duur de mislukkingen tot een minimum kunnen beperken door steeds gebruik te maken van goed schoongemaakt, volkomen droog glaswerk en de te vergelijken buisjes steeds onder volmaakt dezelfde omstandigheden te plaatsen, 't best bleek te voldoen ze te plaatsen vlak naast elkaar in getemperd diffuus daglicht. Trad nog een gering kleurverschil op dan was dit gewoonlik weer weg te krijgen door de buisjes afwisselend

in donker en in sterk licht te plaatsen. Mislukte ook dit — wat slechts bij uitzondering gebeurde — dan heb ik voor mijn bepalingen gebruik gemaakt van geel licht, wat verkregen werd door tussen de gebruikte lichtbron en de colorimeterbuizen te plaatsen een pikrinezuur-filter, zoals dat in de fotografie gebruikt wordt.

a. De methode van Grigaut [33]*) is voor zover ik heb kunnen nagaan de oudste, die van deze kleurreactie gebruik maakt en wordt over 't algemeen door de Franse onderzoekers gebruikt.

> 2 c.c. serum worden gemengd met 13 c.c. van een $^1/_2$ % oplossing van NaOH in alkohol 60 % en met 15 c.c. aether. Dit mengsel wordt enkele malen omgeschud — na verloop van 5 tot 10 minuten is er een duidelijke scheiding tussen de twee vloeistoffen opgetreden. Hierna laat men de onderste helft wegvloeien — het bovenstaande mengsel van alkohol en aether wordt enkele malen met gedestilleerd water gewassen. Dan wordt het extract ingedampt. Het residu wordt in 5 c.c. chloroform opgelost en hiermee wordt de kleurreactie uitgevoerd.

Deze gehele bewerking neemt weinig tijd in beslag en doet weinig van de verschillende stoffen verloren gaan, omdat de gehele behandeling zich afspeelt in een en dezelfde scheitrechter. Een nadeel zou kunnen zijn, dat men ook andere in aether oplosbare stoffen meeneemt, deze geven echter geen van allen de kleurreactie.

Czonka [10] heeft in een door hem uitgewerkte methode aangegeven dat men, als men op een bepaalde wijze te werk gaat, o.a. $BaCl_2$ bijvoegt, zou verhinderen, dat er kleurverschil optrad. Zijn voorschriften heb ik alleen in zoverre opgevolgd, dat ik bij de verschillende methoden de invloed van $BaCl_2$

*) Grigaut heeft ook nog een methode aangegeven, waardoor cholesterine als zodanig kwantitatief wordt neergeslagen, maar hiervoor is zoveel bloed nodig, dat deze wel alleen bij hoge uitzondering zal kunnen worden gebruikt.

heb nagegaan. Voegt men bij de reactie volgens de methode van Grigaut 2 c.c. van een 10 % oplossing van $BaCl_2$ — zoals Czonka aangeeft — dan krijgt men een zeer hinderlijk neerslag dat moeilijk is weg te wassen. Dat hierdoor kleurverschil zou worden tegengegaan heb ik niet kunnen bevestigen.

b. De methode van Autenrieth en Funk [4] wordt vooral in Duitsland gebruikt, ook in de Amerikaanse literatuur heb ik hem vermeld gevonden.

2 c.c. serum worden met 20 c.c. 25 % KOH gemengd en 2 uur lang op het waterbad verzeept. Na afkoeling wordt dit mengsel in een scheitrechter samengebracht met 50 c.c. aether en dit 5 minuten lang krachtig geschud. De aether wordt afgeschonken en er wordt weer 50 c.c. verse aether bijgedaan. Het schudden wordt 6 maal herhaald. De 6 porties aether worden bij elkaar gevoegd en gefiltreerd. De aether wordt verdampt en de cholesterine blijft achter.

Autenrieth en Funk hebben deze methode bruikbaar gemaakt voor hun wigcolorimeter; zij gebruiken daarbij een sterke verdunning: de cholesterine, die na verdamping van de aether overblijft, lossen zij in 100 c.c. chloroform op. Ik heb echter altijd de op deze manier verkregen cholesterine ook in 5 c.c. opgelost en de kleurreactie gedaan op dezelfde manier als bij de methode Grigaut.

Bij deze werkwijze heb ik de invloed van $BaCl_2$ niet nagegaan.

Autenrieth en Funk geven aan, dat het ook mogelik is de verzeepte massa dadelik met chloroform uit te trekken. Van deze chloroform-extractie heb ik geen ervaring, omdat ik mij liever toelegde op de methode, die volgens de auteurs zelf de meest betrouwbare uitkomsten gaf.

c. De methode van Bloor [7] is in Amerika algemeen in gebruik. Hij heeft hiervan twee modificaties aangegeven. Tijdens mijn vooronderzoek was mij hiervan maar één bekend. tot de bespreking waarvan ik mij dus bepalen zal.

3 c.c. serum worden uit een pipet voorzichtig gedrup-

peld in ± 75 c.c. van een mengsel bestaande uit 3 delen verse alkohol en 1 deel verse aether. Om klontering van de eiwitten tegen te gaan moet de kolf daarbij geschud worden. Daarna wordt de kolf in kokend water ondergedompeld, waarbij de vloeistof voortdurend in beweging moet blijven. Enkele malen achter elkaar wordt de vloeistof in de kolf aan de kook gebracht. Het mengsel wordt onder de waterkraan afgekoeld, gefiltreerd en met alkohol-aether tot 100 c.c. aangevuld. Hiervan kan men dan bepaalde porties nemen voor de bepaling van het gehalte. Deze porties worden in een schaaltje ingedampt en de achterblijvende cholesterine in 5 c.c. chloroform opgelost.

Ook bij deze methode worden dus andere lipoiden meegenomen. De bewerking is vrij eenvoudig, alleen kost het indampen van de alkohol-aether belangrijk meer tijd dan het indampen van de aether alleen bij de beide vorige methoden. Toevoeging van $BaCl_2$ heeft in mijn handen ook bij deze methode geen invloed gehad op 't al of niet ontstaan van een kleurverschil.

Czonka's [10] methode heb ik nooit toegepast, omdat hiervoor een kolf nodig is daartoe speciaal vervaardigd. 't Is mogelijk dat zijn methode nooit het kleurverschil doet ontstaan, dit kan echter m.i. niet alleen aan de toevoeging van $BaCl_2$ worden toegeschreven.

Vergelijking van de vier besproken methoden

Voor ik tot de vergelijking ben overgegaan, heb ik mij eerst op de techniek van de afzonderlike methoden toegelegd; alle vereisen enige oefening voor men tot constante, althans gelijkwaardige uitkomsten komt bij onderzoek van twee delen van hetzelfde uitgangsmateriaal. Ook had ik al eerder de gelegenheid om telkens twee van de methoden met elkander te vergelijken.

Om evenwel een zoo juist mogelik oordeel over de methoden

te verkrijgen ben ik van eenzelfde materiaal uitgegaan en ben ik daarvan op dezelfde dag volgens alle vier de methoden een aantal bepalingen begonnen. Het was natuurlik onmogelik al die bepalingen op dezelfde dag te beeindigen. De uitkomsten van de Windaus-methoden waren eerst na een week te berekenen. Om de uitkomsten van de andere methoden zoveel mogelik vergelijkbaar te maken, heb ik dit onderzoek zo ingericht, dat ik op de volgende dagen van de verschillende kleurreacties zoveel mogelik een gelijk aantal bepalingen kon doen.

Uitgangsmateriaál was vers runderserum, afkomstig van het abattoir, dat in het bakteriologies laboratorium aanwezig was voor het maken van voedingsbodems. Het was niet volkomen helder en licht haemolyties.

Volgens Grigaut deed ik zes bepalingen, waarvan bij twee $BaCl_2$ werd toegevoegd. Er trad nergens een kleurverschil op.

De uitkomsten waren:

a. volgens Grigaut	1. 0.135 %
	2. 0.134 %
	3. 0.135 %
	4. 0.136 %
b. idem met $BaCl_2$	5. 0.132 %
	6. 0.128 %

Op het eerste gezicht zou men geneigd zijn te denken, dat toevoeging van $BaCl_2$ een kleine fractie zou doen verloren gaan. Ik wil hier evenwel dadelik opmerken, dat ik dergelijke verschillen bij vroegere bepalingen — en ook later — eveneens gevonden heb voor de oorspronkelike methode van Grigaut.

De vergelijkende bepalingen volgens Autenrieth en Funk zijn enigzins mislukt. Ik had drie proeven genomen, door een ongelukkig toeval zijn echter bij de bewerking twee ervan verwisseld, waardoor het aether-extract van de een bij dat van de ander werd gevoegd en omgekeerd. Hierdoor heb

ik slechts één bepaling tot een eind kunnen brengen. Er trad geen kleurverschil op; de uitkomst was

c. volgens Autenrieth 7. 0.132 %

Volgens Bloor heb ik drie proeven genomen, bij één waarvan ik $BaCl_2$ voegde. Het gehalte werd bepaald door ten slotte de 100 c.c. alkohol-aether in tweeën te delen. Hierdoor kreeg ik zes bepalingen bij twee waarvan een kleurverschil optrad.

d. volgens Bloor
8. 0.119 % kleurverschil
9. 0.129 %

e. idem met $BaCl_2$
10. 0.132 %
11. 0.135 %
13. 0.126 % kleurverschil
12. 0.122 %

Dit serie-onderzoek toont dus ook aan, wat mij al bekend was, dat aan toevoeging van $BaCl_2$ geen invloed is toe te kennen.

Verder heb ik drie maal 5 c.c. behandeld volgens de methode Windaus-Klinkert. Bij weging bleek, dat er aan digitonine-cholesteride aanwezig was in proef I 23.9 mgr., in proef II 28.4 mgr. en in proef III 26.3 mgr. Deze waarden liggen verder uit elkaar dan ik gewoonlik bij de bepalingen volgens Windaus gevonden had.

Om na te gaan of er mogelik nog cholesterine aanwezig was, heb ik aan alle drie proeven nog 5 c.c. 1 % digitonine-oplossing toegevoegd, maar zelfs na meerdere weken staan was in geen van de kolven een spoor neerslag waar te nemen, zodat tenslotte de resultaten aldus luiden:

f. volgens Windaus-Klinkert
14. 0.120 %
15. 0.142 %
16. 0.132 %

Voor gemakkeliker overzicht volgen hier nogmaals de verkregen resultaten in een tabel verenigd.

Methode	gevonden gehalte in %	aantal c.c. serum	
1. Grigaut	0.135	2	
2. id.	0.134	2	
3. id.	0.135	2	
4. id.	0.136	2	
5. id. $BaCl_2$	0.132	2	
6. id. id.	0.128	2	
7. Autenrieth-Funk	0.132	2	
8. Bloor	0.119	3	kleurverschil
9. id.	0.129		
10. id.	0.132	3	
11. id.	0.135		
12. id. $BaCl_2$	0.122	3	kleurverschil
13. id. id.	0.126		
14. Windaus-Klinkert	0.120	5	
15. id. id.	0.142	5	
16. id. id.	0.132	5	

Als ik alleen op deze uitkomsten zou moeten afgaan, zou het zeer moeilik zijn een keuze te doen uit de verschillende methoden. Behalve deze bepalingen hebben ook andere onderzoekingen mij gebracht tot het besluit, dat alle vier de methoden bruikbaar zijn. De digitonine-methode is uit chemies oogpunt de betrouwbaarste, maar voor kliniese doeleinden is een van de kleurmethoden minstens even goed te gebruiken, deze hebben bovendien het voordeel, dat er minder serum voor nodig is.

Van de kleurmethoden heb ik de methode-Grigaut gekozen. Voor ik het vergelijkend onderzoek begon, had ik met deze werkwijze de meeste bepalingen gedaan. Het onderzoek heeft mij gesterkt in de mening, dat deze methode op weinig gecompliceerde wijze tot een zeer goed bruikbare uitkomst voert. Bij mijn bepalingen heb ik mij bediend van de volgende techniek:

Altijd met hetzelfde pipet wordt de hoeveelheid serum

afgemeten. Gewoonlik wordt 2 c.c. gebruikt, is er minder dan kan met nauwkeurig werken ook wel met $1^1/_2$ of 1 — in hooge uitzondering met $^1/_2$ c.c. worden volstaan. Van te voren is 13 c.c. van een $^1/_2$ % oplossing van NaOH in 60 % alkohol in een uitschudbuis gedaan, hierbij wordt het serum gevoegd. Dan ontstaat een troebeling, die door schudden goed door de hele vloeistofmassa wordt verdeeld, vervolgens wordt 15 c.c. aether toegevoegd. Als nu de buis enkele malen wordt omgekeerd — liever niet schudden, omdat dit een lastige emulsie geven kan — mengt zich de aether door de vloeistof en het neerslag verdwijnt. Laat men nu de buis 5 à 10 minuten rustig staan, dan hebben zich in die tijd twee vloeistoflagen afgescheiden. Meestal wordt het mengen van de vloeistoffen herhaald, om eerst nadat de tweede keer een scheiding is opgetreden de onderstaande vloeistof te laten afloopen. De cholesterine en zijn esters zijn dan n.l. in de bovenstaande laag — de aether — overgegaan. Volgens Grigaut heeft de alkohol die bijgevoegd wordt geen andere betekenis dan het overgaan van de cholesterine in de aether te bevorderen; de NaOH is toegevoegd om het stollen van de eiwitten tegen te gaan .In dezelfde uitschudbuis wordt nu de aether met gedestilleerd water gewassen. Het verdient aanbeveling het water langs de wand van de buis te laten inlopen om emulsievorming te voorkomen. Men moet nadat er weer een vloeistofafscheiding is opgetreden, het water niet te vlug laten weglopen; men ziet gewoonlik eerst een scheiding optreden en na enige tijd de bovenste laag van het water — d. i. dus dat gedeelte dat vlak tegen de aether aanligt — een licht gele kleur aannemen, waarschijnlik door uittreden van kleine hoeveelheden aanwezige bloedkleurstoffen. Ik heb de indruk gekregen, dat hoe langer men de aether boven het water laat staan, hoe zuiverder de oplossing ten slotte wordt. De aether wordt op deze manier minstens driemaal met

water gewassen. Nadat de laatste keer het water is afgelopen, wordt nog niet dadelik de aether verdampt, men laat de buis nog even staan om de geringe hoeveelheid water die aan de wand is achtergebleven gelegenheid te geven naar beneden te zakken en dit weg te laten lopen.

Vervolgens wordt de aether boven uit de buis in een schaaltje gegoten, de buis nog flink met aether nagespoeld, deze aether bij het schaaltje gevoegd. De aether wordt op een waterbad of op een elektriese plaat verdampt. In het schaaltje blijven dan kleine vetachtige druppeltjes over.

Dit residu moet overgebracht worden in 5 c.c. chloroform. Om zeker te zijn dat alles goed oplost, doet men het beste b.v. eerst 4 à 5 c.c. toe te voegen en deze op het waterbad tot $1^1/_2$ à 2 c.c. in te dampen. Schudt men nu het schaaltje even om, dan lost in de kokende chloroform alles goed op. Dit wordt afgeschonken en deze bewerking wordt 3 à 4 maal herhaald tot men het residu in precies 5 c.c. chloroform heeft opgelost. Dit wordt dan in een reageerbuis met ingeslepen stop overgeschonken.

Met hetzelfde maatglas, dat eerst met enkele c.c. chloroform is omgespoeld en weer goed is drooggemaakt, worden nu 5 c.c. van een standaardoplossing afgemeten en in een zelfde reageerbuis geschonken. Voor de standaardoplossing wordt gebruikt een oplossing die per 5 c.c. 3 mgr. cholesterine bevat. (Gaat men n.l. uit van 2 c.c. serum en zou hierin 3 mgr. cholesterine worden gevonden, dan zou dit overeenkomen met 0.150 $^0/_0$.) Men krijgt aldus twee oplossingen die niet te ver uit elkaar liggen, wat voor de colorimetriese bepalingen een vereiste is. Om dezelfde reden moet men, als men niet van 2 c.c. uitgaat, maar van minder, ook de standaardoplossing op gelijkwaardige wijze verdunnen.

Bij de beide buizen, die eerst onder de kraan van de waterleiding tot gelijke temperatuur zijn afgekoeld, wordt gevoegd 2 c.c azijnzuuranhydride en 3 druppels sterk

zwavelzuur, vooral dit laatste zeer zorgvuldig. De buizen worden geschud en in getemperd diffuus daglicht gezet. Na 30 minuten wordt de colorimetriese bepaling begonnen. Daartoe dienen twee volkomen gelijke, gegradueerde buizen van Jena-glas; lichtbron is een elektriese draadlamp achter melkglas. In één van de buisjes worden $2^1/_2$ c.c. van de onbekende, in het andere evenveel van de bekende oplossing gedaan. Uit een druppelflesje wordt bij de donkerste van de oplossingen zoveel van de verdunningsvloeistof — $x \times$ (5 c.c. chloroform + 2 c.c. azijnzuuranhydride + 3 druppels H_2SO_4) — bijgevoegd tot de kleuren gelijk zijn. Uit de hoogten van de vloeistofkolommen is de verhouding van het cholesterine-gehalte af te lezen. Door bij één van de buisjes een willekeurige hoeveelheid verdunningsvloeistof toe te voegen, worden de kleuren weer ongelijk en er kan weer een bepaling worden gedaan. Dit wordt enkele malen herhaald. Om alle fouten zoveel mogelik uit te sluiten wordt met een nieuwe hoeveelheid van $2^1/_2$ c.c. weer een zelfde aantal bepalingen gedaan, maar nu met de onbekende oplossing in het colorimeterbuisje, waarin eerst de bekende was geweest. Hierdoor krijgt men 6 à 8 bepalingen, waaruit het gemiddelde berekend wordt.

EIGEN ONDERZOEK

Om een nader inzicht te krijgen omtrent de vraag of het lage gehalte aan cholesterine in het bloed — zoals de Langen dat in Batavia heeft gevonden — een kenmerk is van de Indonesiese volkeren of wel dat dit een gevolg is van een of meer uitwendige invloeden, die op deze volkeren meer inwerken dan op de Europeese, staan in Europa minder wegen open dan in Indië.

Een vraag, die van zeer groot belang is in deze kwestie, n.l. hoe het cholesterine-gehalte van de geimmigreerde Europeaan is en of dat gehalte bij langer verblijf in de tropen aanmerkelik verschilt van dat bij aankomst, moet hier onopgelost blijven. De Langen [44] meent wel, dat de Europeaan in de tropen een lager gehalte aanwijst dan de Europeaan in zijn geboorteland, maar hij heeft tot nu toe hiervan geen getallen gegeven; bovendien geeft hij [41] aan, dat het cholesterine-gehalte van zijn eigen bloed wel dezelfde waarde zou hebben gehouden.

Verder vermeldt hij ook niet tot welke categorie van personen degenen behoorden bij wie hij zijn bepalingen heeft gedaan. Waren dit mensen uit de lagere volksklassen of hoorden hiertoe ook beter gesitueerde Javanen? De uitwendige levensomstandigheden van de verschillende volksgroepen in Indië zijn onderling zo verschillend, dat het ook wel wenselik zou zijn omtrent deze kwesties georienteerd te zijn.

Uit de aard van de zaak zijn deze vragen alleen in Indië zelf op te lossen, maar van niet minder belang leek het mij, in Europa te onderzoeken hoe het bloed-cholesterine-gehalte is van de Indonesiërs, die korter of langer tijd hier hebben gewoond en geleefd volgens de Europeese gewoonten, in de eerste plaats om na te gaan, of ook zij een laag gehalte aan-

wijzen, in de tweede plaats om een inzicht te krijgen in de invloed van de duur van het verblijf in koelere gewesten op het gehalte. Verder heb ik getracht Europeanen te vinden, wier voeding overeenkomt met die van de Javanen, die de Langen onderzocht. Hiervoor moest ik me wagen aan de veronderstelling, dat de door de Langen onderzochte personen patienten waren, die om een of andere reden de hulp van het Stadsverband in Batavia hadden ingeroepen, in ieder geval niet behoorden tot de beter gesitueerden. De Langen geeft hierover wel geen enkele inlichting, maar zijn werkkring geeft m. i. recht tot deze veronderstelling. De Javanen in het algemeen, maar zeer zeker de lagere volksklassen leven vrijwel vegetaries en hun dieet bevat bovendien zeer weinig vet. Eykman [18], die zich in zijn onderzoek over de stofwisseling in de tropen ook met deze verschillen in dieet heeft bezig-gehouden, geeft b.v. de volgende opgave:

Aandeel van de verschillende voedingsstoffen in de warmteproductie (procentsgewijs)

	eiwit	vet	koolhydraten
bij Europeanen	15.4	31.3	53.3
bij Maleiers	9.3	9.9	80.8

In hoever de invloeden van het vegetaries dieet en van vetloze voeding inwerken op het cholesterine-gehalte van het bloed, zou mogelik kunnen worden uitgemaakt door een aantal bepalingen te doen zowel bij vegetariërs, als bij personen die nagenoeg vetloos leven. Een aantal vegetariërs was wel te vinden, maar tot de andere categorie door te dringen leek mij minder gemakkelik. Misschien zijn voor deze laatsten de waarden te gebruiken die Rosenthal en Patrzek [55] hebben gepubliceerd over door hen in de oorlog in Duitsland onderzochte personen; daar zij evenwel uitdrukkelik spreken over ondervoede grote-stads-bevolking en over de pathologie van deze ondervoeding zich niet uitlaten, lijkt mij de nodige reserve hier zeer gewenst.

Ten slotte zou dus nog moeten worden uitgemaakt of in een experiment door onttrekken van vet aan de voeding het cholesterine-gehalte van het bloed daalt, waarbij dan de aan de proef onderworpen dieren overigens normaal en gezond zouden moeten blijven en niet, als in de reeds vermelde onderzoekingen van Stepp [62], te gronde gaan.

Mijn onderzoek heeft bestaan in 1° de bepaling van het cholesterine-gehalte bij verschillende categoriën van personen en 2° een proef-ondervindelik onderzoek bij de mens en bij de hond omtrent de invloed van vet-loos dieet op het bloed-cholesterine-gehalte.

I. Cholesterine-gehalte van het bloed bij verschillende categoriën van personen.

a. Gezonde Europeanen.

De getallen, die de verschillende onderzoekers vonden bij normale personen lopen aanmerkelik uiteen. Verwonderlik is dit niet als men bedenkt hoeveel verschillende factoren op het gehalte invloed kunnen uitoefenen; bovendien kunnen er nog verschillen te voorschijn komen door het gebruik van verschillende techniek. Uit de literatuur zijn de volgende getallen bekend:

	Cholesterine-gehalte in % bij normale personen	
volgens	Widal, Weil en Laudat [70]	0.177—0.195
„	Klinkert [39]	0.14 —0.24
„	Bacmeister en Havers [5]	0.11 —0.18
„	Grigaut [33]	0.12 —0.18
„	Denis [11]	0.167—0.225
„	Rosenthal en Patrzek [55]	0.13 —0.205

In plaats van op deze getallen te bouwen, leek het mij beter zelf een onderzoek in te stellen bij gezonde Europeanen, die volgens gemengd dieet leefden. Hier en bij alle volgende waarnemingen heb ik mij bepaald tot mannelike proefpersonen, om een eventuele invloed van graviditeit en menstruatie uit

te sluiten. Het bloed werd door venaepunctie uit een der armvenae verkregen en wel op zodanig ogenblik, dat de laatste maaltijd ongeveer 4 uur geleden genomen was; hierdoor was de invloed van de digestie mogelik niet geheel uitgesloten, maar dan toch in alle gevallen ongeveer even groot, waardoor de gevonden waarden ten minste onderling vergelijkbaar worden. De collegae in het Instituut voor tropiese hygiëne en enige andere personen vond ik zeer welwillend bereid mede te werken om een inzicht te krijgen in de normale Europeese waarden, of liever om na te gaan, in hoeverre de waarden die ik vond overeenkwamen met de door anderen gevonden waarden. Ik kwam tot de volgende resultaten:

Cholesterine-gehalte in % bij gezonde Europeanen	
Proefpersoon 2	0.161
10	0.177
8	0.181
4	0.182
35	0.182
3	0.184
18	0.185
5	0.189
6	0.211
19	0.216

De meeste waarden liggen hier tussen 0.180 % en 0.190 %, maar ook bij deze gezonde personen komen uitslagen voor naar boven of beneden. De verkregen uitkomsten zijn zeer wel te vergelijken met de door andere onderzoekers gepubliceerde getallen; zij komen het meest overeen met de waarden door Denis en Klinkert gevonden.

De door mij gevolgde techniek leidt dus tot getallen, die met de door anderen gevonden waarden kunnen worden vergeleken.

Behalve dat ik in dit onderzoek een bepaling heb gedaan bij gezonde Europeanen, wat voor het heden waarde

heeft, is deze tabel een waardevol bezit voor de toekomst. Op een enkele na, zullen al deze onderzochte personen binnen kortere of langere tijd naar Oost-Indië vertrekken. De mogelikheid, dat ik na enige tropiese jaren, zo niet bij alle, dan toch bij enkele, een tweede bepaling zou kunnen doen, is niet uitgesloten.

b. Indonesiërs in Europa.

Het was niet gemakkelik om hier in 't land een groot aantal bepalingen te doen, in de eerste plaats omdat het aantal Indonesiërs hier te lande niet groot is en verder omdat maar een klein gedeelte van hen zich voor mijn onderzoek beschikbaar stelde. Het valt te betreuren, dat de heren niet inzagen, dat niet alleen uit theroties oogpunt dit vraagstuk van belang is, maar dat ook voor het inzicht in de tropiese pathologie meer licht in deze kwestie zeer gewenst is. Intussen — het feit, dat zij zich niet voor een dergelijk ingrijpend bloedonderzoek lieten vinden, vooral nadat één hunner tijdens de venaepunctie flauw viel, lijkt mij verklaarbaar. Ik geloof, dat er ook maar weinig Europeanen, die op medies gebied leek zijn, zich zullen onderwerpen aan een aderlating door iemand, die hun volmaakt vreemd is voor een doel dat hun volmaakt onverschillig is. De heren, die zich wel beschikbaar stelden ben ik des te dankbaarder. Ik ben in de gelegenheid geweest bij 12 Indonesiërs en 2 Indo-Chinezen het cholesterine-gehalte van het bloedserum te bepalen met de volgende resultaten:

Cholesterine-gehalte in $^0/_0$ bij Indonesiërs in Europa

Proefpersoon	Geboorteland	Aantal jaren in Europa	
26	Java	$^1/_2$	0.106 1e bepaling 0.113 2e bepaling
27	Java	$4^1/_2$	0.165
28	Java	$^1/_2$	0.184
23	Sumatra	6	0.186
20	Java	1	0.188
21	Java	14	0.191
22	Java	$^1/_2$	0.201
17	Sumatra	$^1/_4$	0.219
16	Java	$^1/_4$	0.220
7	Celebes	11	0.228
(13	Java	3	0.273) (methode Windaus)
(14	Java	?	0.370)
Indo-Chinezen			
29	Ambon	8	0.170
15	Java	$3^1/_2$	0.176

Voor vergelijking met andere waarden meen ik 13 en 14 te moeten uitsluiten. No 13 is bepaald volgens de digitonine-methode, omdat gedurende enige tijd geen azijnzuuranhydride te krijgen was. No 14 is zo hoog, dat ik twijfel hier met een gezond persoon te doen te hebben gehad (ik ben alleen in de gelegenheid geweest urine-onderzoek te doen: de urine bevatte geen eiwit en geen suiker). Ook de beide Indo-Chinezen moeten bij de vergelijking van de Europese en Maleise rassen uitgeschakeld worden. Van de laagst gevonden waarde (No 26) was ik in de gelegenheid na ongeveer 5 weken nog een bepaling te doen ter controle — ik kreeg toen een gelijkwaardige uitkomst.

Er zijn dus 10 bepalingen overgebleven, die een indruk kunnen geven van het cholesterine-gehalte van de in Europa levende Indonesiër en die geplaatst moeten worden naast de vondsten van de Langen.

Cholesterine-gehalte in % bij Indonesiërs

a. op Java (de Langen)				b. in Nederland	
1	0.0591	11	0.0892	26	0.106
2	0.0601	12	0.0898		0.113
3	0.0652	13	0.0918	27	0.165
4	0.0660	14	0.0941	28	0.184
5	0.0796	15	0.0946	23	0.186
6	0.0846	16	0.1012	20	0.188
7	0.0850	17	0.1034	21	0.191
8	0.0862	18	0.1064	22	0.201
9	0.0875	19	0.1110	17	0.219
10	0.0875	20	0.1176	16	0.220
				7	0.228

Uit deze vergelijking blijkt, dat er een groot verschil is tussen de waarden die de Langen in Batavia gevonden heeft en de door mij in Nederland verkregen uitkomsten. (De bepalingen No 13 en 14, die ik om andere redenen heb uitgeschakeld, zouden dit verschil zelfs nog duideliker kunnen maken.) Het is vrij gevaarlik een uitspraak te gronden op zo weinig getallen als ik tot mijn beschikking heb, maar de verschillen tussen de twee categoriën zijn zo groot en de waarden in beide categoriën onderling zo goed overeenstemmend, dat hierbij toeval mijns inziens met zekerheid mag worden buitengesloten. De laagste waarde die ik vond zou nog wel kunnen behoren tot de andere categorie, maar hierin al tot de hoogste waarden behoren. M.i. staat hiermee vast, dat het gehalte aan cholesterine van het bloed bij de Indonesiërs in Indië aanmerkelik verschilt van dat bij de Indonesiërs in Nederland. Daar nu evenwel een ras-eigenschap niet verloren kan gaan door vertrek van de vertegenwoordiger van het ras naar een ander land, volgt hieruit noodzakelik, dat het lage gehalte van het bloedserum aan cholesterine niet, zoals de Langen vermoedde, een eigen-

schap is van de voor het Indonesiese ras specifieke orgaanfuncties van de intern secernerende klieren.

In hoeverre nu de duur van het verblijf in Europa invloed heeft uitgeoefend op het cholesterine-gehalte is uit een zo klein aantal waarnemingen zeer moeilik te beoordeelen — daartoe zou een onderzoek van dezelfde persoon gedurende langere tijd beter geschikt zijn. Toch meen ik, dat de invloed hiervan niet groot is. Worden dezelfde 10 proefpersonen n.l. gerangschikt niet volgens de stijgende waarden, maar volgens de duur van het verblijf hier, dan krijgt men de volgorde aldus:

Proefpersoon	17	16	22	26	28	20	27	23	7	21
Chol. geh. in %	0.219	0.220	0.201	{0.106 / 0.113}	0.184	0.188	0.165	0.186	0.228	0.191

waarin aan de opeenvolgende waarden voor het cholesterinegehalte geen regelmaat is te herkennen. Het lijkt mij waarschijnlik, dat tussen de duur van het verblijf hier te lande en het gehalte geen verband bestaat. En als werkelik de onderzochte personen in Indië een laag gehalte hebben aangewezen, dan moet het niveau betrekkelik vlug zijn gestegen tot de hoogte waarop ik het vond.

Behalve deze negatieve resultaten blijkt verder, dat de waarden voor Indonesiërs in Europa gevonden niet veel verschillen van de bij Europeanen als normaal gevonden waarden, in alle geval niet lager zijn dan deze: de Indonesiërs, die ik onderzocht en die wat uitwendige levensomstandigheden betreft zich aan de Hollandse gewoonten hadden aangepast, vertonen dus, in afwijking van hun landgenoten in de tropen, wier levensomstandigheden van die der Hollanders verschillen, een gehalte aan cholesterine in het bloedserum, dat geheel met dat van de Hollanders is te vergelijken.

c. Vegetaries levende Europeanen.

Niet veel gemakkeliker was het een groot aantal vegetariërs bereid te vinden voor dit onderzoek hun bloed af te staan. In het geheel heb ik 9 personen onderzocht, die korter of langer vegetaries leefden, allen waren lacto-vegetariër; de uitslag hiervan was:

Cholesterine-gehalte in % bij vegetaries levende Europeanen

Proefpersoon	Aantal jaren vegetariër	
9	4	0.103
33	20 (levenslang)	0.118
32	25	0.153
30	13	0.160
34	$4^1/_2$	0.162
31	19	0.167
24	6	0.182
25	4	0.183
(11	$3^1/_2$	0.227)

Omdat bij de laatste bepaling (proefpersoon 11) de venaepunctie vlak na een maaltijd verricht is, moet ik deze waarde uitsluiten — de mogelikheid bestaat, dat de digestie geen invloed heeft, maar zekerheid hierover heb ik niet. Dat ik nu deze bepaling uitsluiten moet, maakt het beoordelen van de gevonden waarden moeiliker — immers de indruk van bovenstaande tabel verandert geheel door het bijvoegen of weglaten van de laatste bepaling.

Sluit men echter de laatste bepaling uit, dan krijgt men de indruk, dat de waarden iets lager zijn dan die gevonden worden bij Europeanen, die zich volgens gemengd dieet voeden. Het aantal bepalingen is echter klein en het verschil met niet-vegetariërs gering, zodat ik meen hieruit geen conclusie te mogen trekken omtrent een oorzakelik verband tussen vegetaries dieet en het cholesterine-gehalte van het bloed.

Intussen moet wel in het oog worden gehouden, dat wij hierdoor geen indruk hebben gekregen over het zuiver vegetaries dieet — immers al de onderzochte personen waren lacto-vegetariër, gebruikten dus melk en eieren, waardoor zowel dierlik vet als dierlik eiwit werden genuttigd. De bepalingen kunnen dus alleen van belang zijn met het oog op de invloed van bepaalde dierlike eiwitten en vetten op het cholesterine-gehalte.

II. Experimenteel gedeelte.

Of een nagenoeg vetloos dieet op den duur zou kunnen voeren tot een laag gehalte aan cholesterine in het bloed — ook deze vraag zou ik liefst hebben opgelost door onderzoek van personen die gedurende langere tijd aan een dergelijk dieet onderworpen waren geweest. Op geen enkele manier was het mij mogelik dergelijke personen te vinden — en, als ik ze had kunnen vinden, dan zou ik mogelik evenals Rosenthal en Patrzek te doen hebben gehad met half-pathologiese gevallen van ondervoeding. Om de invloed van het vetloze dieet na te gaan, stond mij dus geen andere weg open dan het experiment, waarbij dan weliswaar alle voorzorgen genomen kunnen worden en alle omstandigheden juist gekozen kunnen zijn, maar dat binnen een bepaalde tijd moet aflopen en dus altijd tot op zekere hoogte onnatuurlik is. Tot een proefondervindelik onderzoek ben ik dan ook alleen overgegaan bij gebrek aan natuurliker materiaal.

a. Invloed van vetloos dieet op het cholesterine-gehalte bij de mens.

Als proefpersoon bij dit experiment heb ik zelf dienst gedaan. Nadat ik enige dagen het cholesterine-gehalte van mijn bloed had bepaald onder gemengd dieet, heb ik dit gemengde dieet eerst vervangen door een streng vegetaries dieet (dus ook zonder melk en eieren); daarna heb ik uit dit dieet ook het vet weggelaten. Gedurende deze levenswijzen werd

nu en dan het bloed-cholesterine-gehalte bepaald en ook weer nadat het vetloze dieet door gemengd dieet vervangen was.

Eigenlik volkomen vetloos is het dieet nooit geweest, omdat ook meelsoorten en groente wel enig vet bevatten en het voedsel niet met aether was uitgetrokken — maar alles was toch zo gekozen dat er voor de bereiding geen vet werd gebruikt en dat de voedingsstoffen, die vooral het vet bevatten, alle werden weggelaten.

Het dieet bestond uit:

ontbijt: 3 à 4 boterhammen met jam, appelstroop of honing, 2 koppen thee;

koffiedrinken: 6 à 8 boterhammen (id.), 1 kop waterchocola, 1 appel;

middagmaal: aardappelen, groente, bonen of erten, rijst, 1 appel;

's avonds gewoonlik nog 2 koppen thee.

Alkohol gebruik ik nooit — invloed hiervan is dus uitgesloten.

Het voedsel, zowel het brood als het middagmaal, werd dus geheel zonder boter, vet of olie bereid — alleen in de thee werden enkele druppels melk gebruikt.

Ik heb niet berekend, hoe groot het aantal toegevoerde caloriën was en of dit theoreties voldoende was. Maatstaf voor het voldoende zijn was het behagelikheidsgevoel. Ik heb mij gedurende de hele proef volkomen wel gevoeld en niet minder geschikt tot het werk dan andere dagen. Het werk bestond in laboratorium-bezigheden gewoonlik van 9—5 met een korte onderbreking voor het sobere koffiemaal, verder ondervond ik elke werkdag de vermoeienis van een treinreis naar en van Amsterdam over een afstand van ongeveer 35 K.M.; de avenden werden besteed aan literatuur en andere studie. Dit vetloze dieet heb ik 18 dagen volgehouden zonder enige hinder — plotseling was het me toen onmogelik nog langer dit eentonige dieet te volgen, zodat ik vreesde niet voldoende voedsel te zullen nemen. Om hierdoor de uitkomsten niet onzuiver te maken, ben ik toen dadelik weer tot gemengd dieet overgegaan.

Na deze overgang heb ik twee dagen vrij ernstige diarrhee doorgemaakt, zonder enig gevoel van ziek zijn, vermoedelik dus wel een gevolg van de dieetverandering. Ook na deze dieetverandering werd het bloed nog enige malen onderzocht.

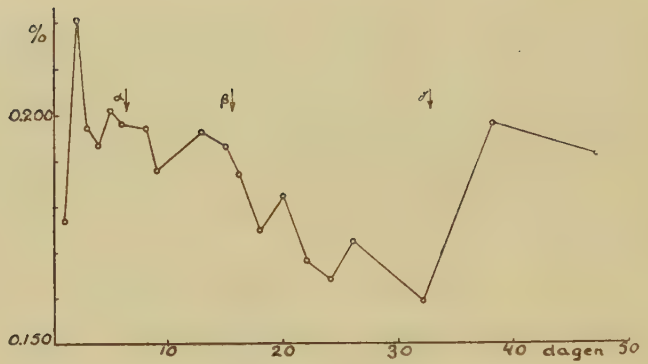
Het bloed werd altijd per venaepunctie afgenomen juist voor de koffiemaaltijd, het ontbijt was dan meer dan vier uur geleden genomen.

Het verloop van het experiment was het volgende:

Cholesterine-gehalte in % bij dezelfde persoon onder verschillende diëten

Dag van het onderzoek	Dieet	Gewicht	
1	gemengd		0.177
2	id.		0.221
3	id.		0.197
4	id.		0.193
5	id.		0.201
6	id.	77.4 K.G.	0.198
8	streng vegetaries		0.197
9	id.		0.188
11	id.		0.194
13	id.	76.9 K.G.	0.196
15	id.		0.193
16	vetloos dieet		0.187
18	id.		0.175
20	id.	77.4 K.G.	0.182
22	id.		0.168
24	id.		0.164
26	id.	76.2 K.G.	0.172
32	id.	75.9 K.G.	0.159
38	gemengd		0.198
47	id.	76.4 K.G.	0.191

Tot gemakkeliker overzicht zijn de veranderingen in de cholesterine-spiegel weergegeven in een curve (fig. 1), waarin in horizontale richting het aantal dagen en in verticale richting



Figuur 1

het cholesterine-gehalte is aangegeven. Verder geeft het pijltje α aan de dag, waarop na de venaepunctie, dus beginnende met het koffiemaal, het gemengde dieet is vervangen door het vegetariese; β wijst de dag aan, waarop op overeenkomstige wijze tot vetloos dieet werd overgegaan en γ evenzo de dag, waarop dit laatste weer is vervangen door gemengd dieet.

De eerste twee dagen van het onderzoek vertoont de curve een uitslag eerst naar beneden dan naar boven, die m. i. afhankelik moet zijn van intercurrente oorzaak. Deze uitslagen kan ik niet verklaren — ik heb mij in die dagen volkomen normaal gevoeld en er zijn voor zover ik kon nagaan geen biezondere invloeden geweest, die op mij hebben ingewerkt. Juist zulke onverklaarbare uitslagen in de curve zijn een aansporing om met de interpretatie van de gevonden waarden zeer voorzichtig te zijn en niet te spoedig een conclusie te trekken uit één enkele bepaling.

Gedurende de volgende dagen van het vooronderzoek blijven de waarden dan vrijwel gelijk — mogelik bestaat er een kleine neiging van de curve om naar beneden te gaan, maar deze is dan toch wel zeer gering.

Veel sterker is de daling gedurende het daarop volgende stadium van vetloos dieet; had ik in deze dagen slechts één bepaling gedaan, dan zou ik mij — gezien de ervaring in de

eerste twee dagen — niet gerechtigd achten dit als een afwijking te beschouwen. Nu er evenwel een aantal bepalingen gedaan zijn, die alle in dezelfde richting wijzen, meen ik dat dit niet anders te verklaren is dan als een gevolg van de gewijzigde omstandigheden, in casu de voeding. Nog meer recht om dit aan te nemen geeft de stijging, die optreedt na terugkeer tot het gemengde dieet.

Op de waarde, die het experiment heeft voor de beoordeling van het cholesterine-gehalte van de Indonesiërs kom ik nader terug.

b. Invloed van vetloos dieet op het cholesterine-gehalte bij honden.

Tegelijk met mijzelf heb ik ook een vier-tal honden aan een onderzoek onderworpen. Hiervoor heb ik gekozen vier mannelike gezonde dieren, die ongeveer alle even groot waren. Ze waren voor het begin van het onderzoek al 4 à 5 weken in het laboratorium aanwezig en dus aan hun nieuwe omgeving en hun veranderde levensomstandigheden gewend. Zij waren alle aan volkomen dezelfde invloeden blootgesteld, hun hok bestond uit een ruime kooi in de dierenstal met een uitloop naar buiten. Zij konden elkaar niet bereiken, zodat het niet mogelik is geweest, dat voedsel genomen werd, dat voor een ander bestemd was. Zij hebben alle zonder enige hinder de proef doorstaan — zij bleven levendig en fris en hun gewicht veranderde gedurende de proef niet veel.

De proef werd nu zo ingericht, dat eerst gedurende enige tijd bij gemengd dieet het bloed-cholesterine-gehalte bepaald werd. Dit gemengde dieet bestond uit brood, aardappelen, rijst en 100 gram vet paardenvlees per dag. Op een vooraf bepaalde dag werd van twee vooraf aangewezen honden het vlees ingehouden, waarvoor in de plaats zij dan zoveel van het andere voedsel kregen als zij nodig hadden — dit laatste was voor de verschillende dieren niet gelijk. Of de dieren genoeg kregen werd gecontroleerd aan hun gedrag en door

ze op bepaalde tijden te wegen. Na drie weken werd nu het dieet verwisseld, zodat de dieren die eerst vetloos geleefd hadden gemengd dieet kregen en andersom. Na enige tijd kregen dan weer alle vier de dieren hun oorspronkelike dieet.

Om het overzicht niet te ingewikkeld te maken en de curven niet te verward, is het gemakkeliker dit experiment als twee proeven te bespreken, waarin dan telkens twee onder verschillend dieet levende honden naast elkaar worden geplaatst, waardoor dus naast een vetloos levend dier een controle-hond aanwezig is. Gewoonlik tweemaal per week werd het cholesterine-gehalte bepaald, een enkele maal slechts moest ik van deze regel afwijken omdat de vanae gethromboseerd waren — het was n.l. zeer moeilik de dieren tijdens de vanaepunctie kalm te houden, zodat niet altijd de vena-wand onbeschadigd bleef.

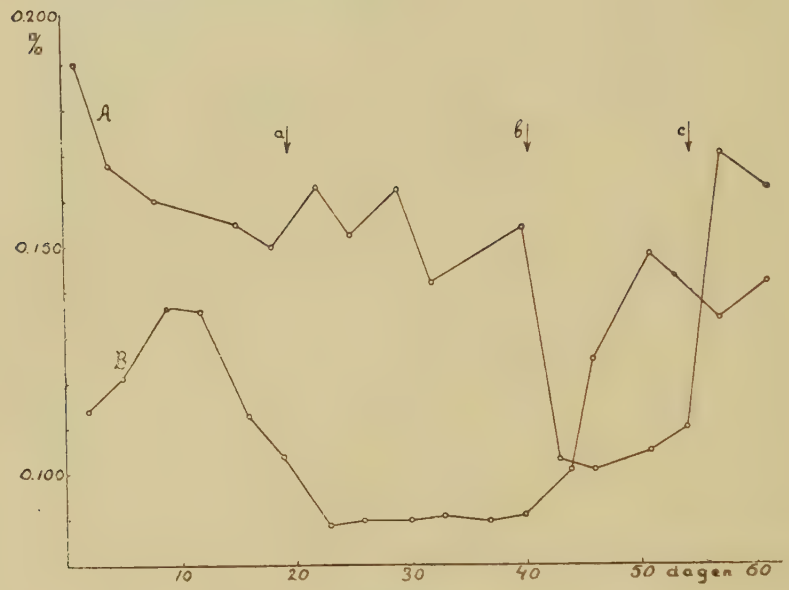
De eerste proef betrof de honden A en B. 19 dagen na het begin van het onderzoek werd uit het dieet van B het vlees — en daardoor het vet — weggelaten, A behield het gewone dieet, de 40ste dag na het begin werden de diëten omgewisseld — dus nu A vetloos — terwijl op de 54ste dag ook A weer vlees kreeg.

De resultaten waren als volgt:

Cholesterine-gehalte bij twee honden onder verschillende diëten

	Hond A		Hond B	
Dag.	Gew. in K.G.	Chol.-geh. in %	Gew. in K.G.	Chol.-geh. in %
1	7.550	0.190	6.600	
2				0.114
4		0.168		
5				0.121
8		0.160		
9				0.137
12				0.136
15		0.155		
16				0.113
18		0.150		
19				0.104
22	7.200	0.163		
23			6.500	0.089
25		0.152		
26				0.090
29	7.100	0.162		
30			6.350	0.090
32		0.142		
33				0.091
37	7.300		6.300	0.090
40		0.154		0.091
43	7.750	0.103		
44			6.500	0.101
46		0.101		0.125
51	7.250	0.105	6.350	0.148
53				0.143
54		0.110		
57	7.600	0.170	6.750	0.134
61		0.162		0.142

Deze waarden zijn in figuur 2 tot 2 curven verenigd: a geeft aan de dag waarop hond B aan een vetloos dieet werd onder-



Figuur 2

worpen, b waarop de diëten van A en B werden verwisseld en c waarop ook A weer tot het gemengde dieet terug keerde.

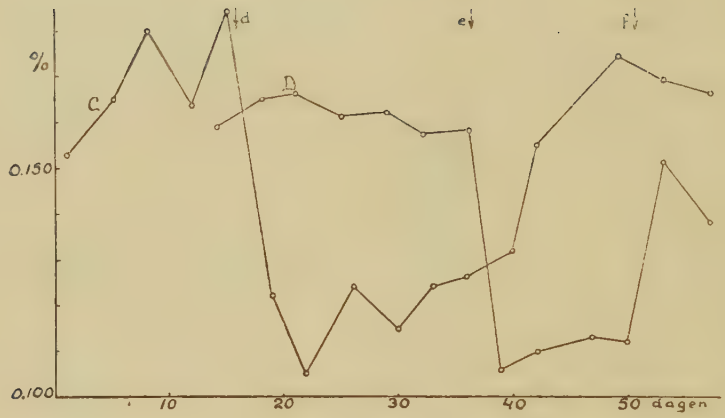
Op gelijke wijze werd gehandeld met de honden C en D. D is de 14e dag aan het experiment onderworpen als plaatsvervanger voor een andere hond, die ontsnapt was. D was toen echter al even lang in het laboratorium als de andere honden en aan de omgeving gewend. Na 15 dagen kreeg C vetloos dieet — na 36 dagen werden de diëten omgewisseld. 51 dagen na het begin van het onderzoek kregen beiden gemengd dieet.

De bepalingen gaven de volgende waarden:

Cholesterine-gehalte bij twee honden onder verschillende diëten

	Hond C		Hond D	
Dag.	Gew. in K.G.	Chol.-geh. in %	Gew. in K.G.	Chol.-geh. in %
1	10.350	0.153		
5		0.165		
8		0.180		
12		0.164		
14		0.184	8.550	0.159
15		0.184		
18			8.500	0.165
19	10.200	0.122		
21				0.166
22		0.105		
25			8.200	0.161
26	9.950	0.124		
29				0.162
30		0.115		
32			8.200	0.157
33	9.900	0.124		
36		0.126		0.158
39			8.400	0.106
40	10.300	0.132		
42		0.155		0.110
47	10.500		8.250	0.113
49		0.174		
50				0.112
53	10.850	0.169	8.300	0.151
57		0.166		0.138

In figuur 3 zijn deze waarden in curve gebracht — *d* is de dag waarop voor C het vetloos dieet begon, *e* waarop het dieet van beide dieren werd omgewisseld en *f* waarop ook D weer gemengd voedsel kreeg.



Figuur 3

Ook in deze beide experimenten is het duidelik, dat onttrekken van vet aan de voeding een daling van het cholesterine-gehalte van het bloed-serum ten gevolge heeft. De mogelikheid, dat deze daling van een andere uitwendige omstandigheid afhankelik is, is hier uitgesloten door het aanwezig zijn van de controledieren. Verder is het kruisen van de lijnen, die het verloop van het cholesterine-gehalte aanwijzen, nadat de diëten gewisseld werden, wel een zeer sprekend bewijs voor de mening, dat de invloed van de voedingverandering de veranderingen in het cholesterine-gehalte veroorzaakte.

Een verschil met het experiment dat ik op mijzelf nam is hierin gelegen, dat terwijl bij mijzelf eerst na langere tijd een daling is waar te nemen, deze daling bij de proefdieren meer plotseling optreedt om gedurende de tijd van vet-onthouding op gelijk niveau te blijven. Vettoevoer veroorzaakt weer een stijging van het gehalte — bij twee van de dieren spoediger dan bij de andere twee. Dit verschil zou mogelik hierin gelegen kunnen zijn, dat ik zelf grotere vet- en cholesterine-dépots bezat dan de dieren, misschien ook een gevolg kunnen zijn van de grotere verscheidenheid van mijn eigen dieet.

Als resultaat van het experiment bij de honden meen ik te mogen noemen: Bij honden, die gemengd gevoed worden en daarbij elke dag ongeveer evenveel vet krijgen, schommelt het gehalte aan cholesterine van het bloed-serum om een bepaald gemiddelde. Bij vetloze voeding ligt de gemiddelde waarde aanmerkelik lager.

De resultaten van mijn onderzoek kunnen in het kort aldus worden geformuleerd:

Het cholesterine-gehalte van het bloedserum van Indonesiërs in Nederland, die geheel volgens Nederlandse gewoonten leven en zich Europees voeden, wijkt niet noemenswaard af van wat als normaal bij Europeanen gevonden wordt.

Bij personen, die langere tijd lacto-vegetaries hebben geleefd, wordt een cholesterine-gehalte gevonden, dat iets lager is dan normaal wordt gevonden, maar toch nog aanmerkelik veel hoger dan de Langen in Indië bij Javanen heeft vastgesteld.

Door een vetloos dieet gedurende 18 dagen ging bij mijzelf het cholesterine-gehalte terug van ± 0.195 % tot 0.159 %.

Vier honden, die afwisselend vetloos en gemengd voeder tot zich namen, reageerden op het weglaten van vet uit de voeding met een daling van het cholesterine-gehalte, terwijl bij vettoevoer het oorspronkelike gehalte weer spoedig werd teruggekregen.

SAMENVATTING

Terwijl de Langen bij Javanen in Indië een zeer laag cholesterine-gehalte van het bloedserum heeft waargenomen, heb ik bij een aantal Indonesiërs, die in Europa leefden, geen noemenswaardige afwijkingen gevonden van het normale Europeese gehalte. Hieruit mag het besluit worden getrokken, dat het lage cholesterine-gehalte bij de Javanen van de Langen niet is de uiting van een ras-eigenschap, immers dan zouden ook Javanen hier te lande een laag gehalte aanwijzen. Het verschil in gehalte bij de Javanen hier en de Javanen in Indië moet worden aangezien als een gevolg van de zo zeer verschillende uitwendige omstandigheden.

De uitwendige omstandigheden, die het meest verschillen, zijn de voeding en het klimaat.

Uit de bepalingen, die ik bij vegetaries levende Europeanen kon doen, blijkt, dat misschien de cholesterine-spiegel in het bloed bij hen iets lager is dan bij niet-vegetaries levenden, het verschil is echter gering. Het experimenteel onderzoek leerde, dat zelfs na nog geen 3 weken nagenoeg vetloos dieet bij de mens het cholesterine-gehalte in het bloed ongeveer 20 % was gedaald en dat bij honden onthouding van vet ten gevolge had dat het bloed-cholesterine-gehalte op een lager niveau kwam (ongeveer 30 % lager).

Evenwel, hoe sprekend deze dalingen ook zijn, toch werden geen getallen verkregen vergelijkbaar met die van de Langen, die immers bij Inlanders waarden vond, die zelfs meer dan 50 % lager waren dan bij Europeanen. De door mij gevonden daling kan dus nog geen volledige verklaring geven. Men zou twee mogelikheden kunnen aannemen: ten eerste, dat behalve de voeding nog andere factoren in het spel zijn en ten tweede,

dat eerst een lang volgehouden vet-arm dieet een zo lage daling zou meebrengen. Misschien zijn de vondsten van Rosenthal en Patrzek een steun voor deze laatste veronderstelling. Bepalingen bij de verschillende bevolkingsgroepen in Indië zouden een waardevolle aanvulling zijn voor dit onderzoek.

De Langen en Schut hebben waarschijnlik gemaakt, dat voor het verschil in bloed-suiker-gehalte een klimatologiese factor en wel het verschil in temperatuur aansprakelik was. Dat ook het cholesterine-gehalte onder invloed van het klimaat veranderen kan, hierover meen ik uit mijn onderzoek geen besluiten te mogen trekken. Ook om deze laatste invloed te leren kennen zullen nog nadere onderzoekingen in Indië nodig zijn; en wel naar het cholesterine-gehalte van het bloed bij personen, die onder hetzelfde klimaat en verschillende voeding leven en bij personen, die zich op gelijke wijze voeden, maar aan een verschillend klimaat zijn blootgesteld, wat prakties neerkomt op vergelijkende bepalingen bij Inlanders en Immigranten in de kustvlakte en in het gebergte. Om uit te maken of wellicht een langer verblijf in de tropen veranderingen van het cholesterinegehalte meebrengt, zou het bovendien aanbeveling verdienen na te gaan of er verschillen bestaan bij langer of korter verblijf in de koloniën.

Ongetwijfeld zullen zij, wier belangstelling in deze richting gaat, gelegenheid vinden deze vragen te beantwoorden, wat voor het nog weinig opgeloste vraagstuk van de cholesterinestofwisseling van veel belang zal kunnen zijn.

LITERATUUR

1 D'Amato — Uebt das in der Nahrung enthaltene Cholesterin Einflusz auf die Cholesterinausscheidung in der Galle aus? Biochemische Zeitschrift Bd. 69 S. 217.

2 Anitschkow — Ueber die Atherosklerose der Aorta beim Kaninchen und über deren Entstehungsbedingungen. Zieglers Beiträge zur pathol. Anatomie und algem. Pathologie 59 Bd.

3 Aschoff en Bacmeister — Die Cholelithiasis. Jena 1909.

4 W. Autenrieth en A. Funk — Ueber kolorimetrische Bestimmungsmethoden: Die Bestimmung des Gesammtcholesterins im Blut und in Organen. Münchener medizinische Wochenschrift 1913 S. 1243.

5 Bacmeister en Havers — Zur Physiologie und Pathologie des Cholesterinstoffwechsels. Deutsche medizinische Wochenschrift 1914 S. 385.

6 W. R. Bloor — Studies on blood fat. II Fatabsorption and the blood lipoids. Journal of biological Chemistry XXIII.

7 id. — The determination of cholesterol in blood. ibid. XXIV.

8 id. — Fatassimilation. ibid. XXIV.

9 C. Bruck — Die biologische Differenzierung von Affenarten und menschlichen Rassen durch spezifische Blutreaktion — geciteerd volgens Uhlenhuth en Steffenhagen in Kolle en Wassermann's Handboek, waar de oorspronkelike publicatie foutief is aangegeven.

10 Frank A. Czonka — A critique of certain data on the content of cholesterol and fatty substances in the blood, together with a modification of the colorimetric method for estimating cholesterol. Journal of biological Chemistry XXIV.

11 W. Denis — Cholesterol in human blood under pathological conditions. Journal of biological chemistry XXIX.

12 E. von Dungern en L. Hirschfeld — Ueber Nachweis und Vererbung biochemischer Strukturen. Zeitschrift für Immunitätsforschung IV S. 531.

13 id. id. — Ueber Vererbung gruppenspezifischer Strukturen des Blutes. Ibidem VI S. 284.

14 id. id. — Ueber gruppenspezifischen Strukturen des Blutes. Ibidem VIII S. 526.

15 C. Eykman — Over zoogenaamde tropische anaemie. Geneeskundig Tijdschrift voor Nederl.-Indië 1890 bldz. 339.

16 id. — Het specifiek gewicht en het watergehalte van het menschelijke bloed in het tropische klimaat. Ibidem 1891 bldz. 409.

17 id. — Bijdrage tot de kennis van de stofwisseling bij de bewoners der tropen. Ibidem 1891 blzd. 416.

18 id. — Bijdrage tot de kennis van de stofwisseling bij de bewoners der tropen. Ibidem 1893 bldz. 163.

19 id. — Vergelijkend onderzoek van de physische warmteregeling bij den Europeeschen en den Maleischen tropenbewoner. Ibidem 1894 bldz. 544.

20 id. — Bijdrage tot de kennis van de stofwisseling bij de bewoners der tropen. Ibidem 1896 bldz. 154.

J. A. Gardner — The origin and destiny of cholesterol in animal organism.

21 I Ch. Dorée en Gardner — On the so-called Hippocoprosterol. Proceedings of the Royal Society of London (Series B) 80 p. 221.

22 II Dorée en Gardner — The excretion of cholesterol by the dog. Ibidem 80 p. 227.

23 III Dorée en Gardner — The absorption of cholesterol from the food and its appearance in the blood. Ibidem 81 p. 109.

24 IV C. W. Ellis en Gardner — The cholesterol contents of eggs and chicks. Ibidem 81 p. 129.

25 V Mary T. Fraser en Gardner — On the inhibitory action of sera of rabbits fed on diets containing varying amounts of cholesterol on the haemolysis of blood by saponin. Ibidem 81 p. 230.

26 VI Ellis en Gardner — The excretion of cholesterol by the cat. Ibidem 81 p. 505.

27 VII Fraser en Gardner — On the quantity of cholesterol and cholesterol esters in the blood of rabbits fed on diets containing varying amounts of cholesterol. Ibidem 82 p. 559.

28 VIII Ellis en Gardner — On the cholesterol content of the liver of rabbits under various diets and during inanition. Ibidem 84 p. 461.

29 IX Ellis en Gardner — On the cholesterol content of the tissues other than liver of rabbits under various diets and during inanition. Ibidem 85 p. 385.

30 X Ellis en Gardner — On the excretion of cholesterol by man, when fed on various diets. Ibidem 86 p. 13.

31 XI Gardner en Landner — The cholesterol content of growing chickens under different diets. Ibidem 87 p. 229.

32 Edward H. Goodman — Ueber den Einflusz der Nahrung auf die Ausscheidung von Gallensäuren und Cholesterin durch die Galle. Hofmeisters Beiträge zur chemischen Physiologie und Pathologie 9 Bd. S. 91.

33 A. Grigaut — Le cycle de la cholestérinémie. Thèse de Paris 1913.

34 G. Grijns — Het soortelijk gewicht van het bloed der Europeanen in de tropen. Geneeskundig Tijdschrift voor Nederl.-Indië 1894 bldz. 480.

35 id. — Bepalingen van den enkelvoudigen reactietijd bij Europeanen en Maleiers. Ibid. 1902 bldz. 197.

36 id. — Reukmetingen bij Europeanen en Inlanders. Ibid. 1906 bldz. 264.

37 Th. E. Hess Thaysen — Beiträge zur physiologischen Chemie des Cholesterins und der Cholesterinester. Biochemische Zeitschrift LXII.

38 L. Hirschfeld en H. Hirschfeld — Serological differences between the blood of different races. The Lancet 18 October 1919.

39 D. Klinkert — Onderzoekingen en beschouwingen omtrent de cholesterine-stofwisseling. Nederl. Tijdschrift voor Geneeskunde 1912 II 25.

40 Landau en Mac Nee — Zur Physiologie des Cholesterinstoffwechsels I en II. Zieglers Beiträge zur pathologischen Anatomie und algem. Pathologie 1914.

41 C. D. de Langen — Cholesterine-stofwisseling en rassenpathologie. Geneeskundig Tijdschrift voor Nederl.-Indië 1916 bldz. 1 (ook verschenen in de Mededeelingen van den Burgerlijken Geneeskundigen Dienst 1918 bldz. 1).

42 id. — Indische Galsteenen. Geneeskundig Tijdschrift voor Nederl.-Indië 1918 I bldz. 336.

43 id — Enkele opmerkingen naar aanleiding van de menigvuldigheid van eenige constitutie-ziekten in de tropen. Nederl. Tijdschrift voor Geneeskunde 1919 II bldz. 1638.

44 De Langen en J. Schut — De bloedsuiker in de tropen en haar beteekenis bij het acclimatiseeren. Geneeskundig Tijdschrift voor Nederl.-Indië 1916 bldz. 490.

45 id. id. — Over acclimatisatie. Nederl. Tijdschrift voor Geneeskunde 1918 I bldz. 336.

46 E. P. Lehman — On the rate of absorption of cholesterol from the digestive tract of rabbits. Journal of biological Chemistry XVI.

47 Lemoine en Gerard — geciteerd volgens Grigaut, die de oorspronkelike publicatie niet verder vermeldt.
48 J. Lifschütz — Quantitative Bestimmungen der Cholesterinstoffe neben einander. Biochemische Zeitschrift LIV.
49 J. J. van Loghem — Klimaat en ziekte. Inaugurale rede Amsterdam 1916.
50 Georgine Luden — Observations on cholesterin retention as a factor of cell proliferation. Journal of laboratory and clinical medicine I 9.
51 id. — Observations on the changes in the cholesterol content of the blood of goats, following cholesterol feeding alone, Roentgen treatment alone and cholesterol feeding combined with Roentgen treatment and subsequent castration. Journal of biological Chemistry XXVII p. 273.
52 id. — Experiments concerning the relation of the diet, the blood cholesterol and the „lymphoid defence". Journal of laboratory and clinical Medicine II p. 141.
53 J. H. Mueller — The Assimilation of cholesterol and its esters. Journal of biological chemistry XXII.
54 F. Rosenthal — Ueber Cholesterinverarmung der menschlichen roten Blutkörperchen unter dem Einflusz der Kriegsernährung. Deutsche medizinische Wochenschrift 1919 H. 21.
55 Rosenthal en Patrzek — Ueber Cholesterinverarmung des Blutes unter dem Einflusz der Kriegsernährung. Berliner klinische Wochenschrift 1919 H. 34.
56 M. A. Rothschild — Zur Physiologie des Cholesterinstoffwechsels III. Die Beziehungen der Nebenniere zum Cholesterinstoffwechsel. Zieglers Beiträge zur patholog. Anatomie und algem. Pathologie 60 Bd.
57 id. — IV Ueber die Beziehungen der Leber zum Cholesterinstoffwechsel. Ibidem 60 Bd.
58 id. — V Der Cholesteringehalt des Blutes und einiger Organe im Hungerzustande. Ibidem 60 Bd.
59 Rouzaud en Cabanis — Contribution à l'étude de la cholesterinemie physiologique. Influence de l'alimentation. Comptes rendus de la Société de Biologie 1913 p. 813.
60 A. van der Scheer — Over tropische anaemie. Geneeskundig Tijdschrift voor Ned.-Indië 1890 bldz. 516.
61 Soper — Zur Physiologie des Cholesterinstoffwechsels VI. Ueber Beziehungen der Milz zum Cholesterinstoffwechsel. Zieglers Beiträge zur pathol. Anatomie und algem. Pathologie 60 Bd.

62 W. Stepp — Beobachtungen über den Cholesteringehalt des Blutes und der Galle bei lipoidfrei ernährten Tieren. Zeitschrift für Biologie 69 Bd. 10 en 11.

Wacker en Hueck — Chemische und morphologische Untersuchungen über die Bedeutung des Cholesterins im Organismus.

63 1 Einige Bemerkungen zur quantitativer Bestimmung des Cholesterins nach Windaus.

64 2 Der Gehalt Menschlicher Nebennieren an Cholesterin und Cholesterinester, besonders mit Rücksicht auf die histologische Untersuchung.

65 3 (von Otto Köhler) Ueber experimentell erzeugte Veränderungen im Cholesteringehalt der Nebennierenrinde und ihre Beziehungen zum Cholesteringehalt des Blutserums.

No. 1, 2 en 3 in: Archiv. für experimentelle Pathologie und Pharmakologie 71 Bd. S. 373.

66 4 Ueber den Cholesteringehalt des Blutes verschiedener Tiere und den Einflusz künstlicher Cholesterinzufuhr besonders mit der Nahrung. Archiv. für experimentelle Pathologie und Pharmakologie 74 Bd. S. 416.

67 5 (von W. Hueck) Ueber den Cholesteringehalt des Blutes vom Katzenhai (Scyllium catulus) unter dem Einflusz der Dyspnoe.

68 6 (von Edwin Picard) Ueber den Einflusz der Muskelarbeit auf den Cholesteringehalt des Blutes und der Nebennieren.

No. 5 en 6 in Archiv. für experimentelle Pathologie und Pharmakologie 74 Bd. S. 442.

69 id. id. — Ueber die Beziehungen des Cholesterins zum intermediären Fettstofwechsel. Biochemische Zeitschrift 100 Bd. S. 84.

70 Widal, Weill en Laudat — Etude comparative du taux de la cholesterine libre et de ses éthers dans le serum sanguin. Comptes rendus de la société de Biologie 1913 p. 882.

71 A. Windans — Ueber die quantitative Bestimmung des Cholesterins und der Cholesterinester in einigen normalen und pathologischen Nieren. Hoppe-Seyler's Zeitschrift für Physiologische Chemie 65 Bd. S. 110.

72 J. Yamakoshi — Quantity of Cholesterin in Blood. Bulletin of Naval Medical Association of Japan 1919 No. 22 p. 7 — geciteerd volgens referaat in The Journal of the American Medical Association 3 May 1919.

STELLINGEN

I

Bij het optreden van voorjaarsrecidieven van malaria tertiana speelt de parthenogenese een kleinere rol dan het voortbestaan van een schizonten-generatie gedurende de winter.

II

Voor de sero-diagnostiek van syphilis mag de reactie van Sachs en Georgi nog niet zelfstandig gebruikt worden.

III

Bij de bestrijding van de epidemiese meningitis worde niet de meeste aandacht geschonken aan het opsporen en isoleren van virusdragers, maar aan verbetering van de huisvesting.

IV

De geldende wettelike bepalingen tegen verbreiding van besmettelike ziekten door het verkeer eisen dringend herziening.

V

Spiervariaties kunnen belangrijke aanwijzingen geven omtrent de opbouw van het skelet.

VI

Een geslingerde slaapbeenslagader is geen herkenningsteken voor algemene aderverkalking.

VII

Decubitus kan veroorzaakt worden door voorafgaande veranderingen in dieper gelegen delen.

VIII

Wanneer bij galsteenlijden operatief ingrijpen noodzakelik is, verrichte men cholecystectomie met choledochotomie.

IX

Het feit, dat bij iemand circumcisie is toegepast maakt voor deze persoon de kans op syphilitiese besmetting geringer.

X

Het ontstaan van tubair zwangerschap mag niet worden toegeschreven aan een abnormaal wijde eileider.

XI

Bij diabetes mellitus bepale men ook de tolerantie voor eiwitten en vetten.

XII

De „Ringtrübung" van Vossius bestaat uit irispigment, dat op de lenskapsel is vastgekleefd.